

Aus der
Radiologischen Universitätsklinik
Diagnostische und Interventionelle Neuroradiologie

**Quantifizierung von Metaboliten des Gehirns mit Hilfe der
Magnetresonanzspektroskopie unter
Verwendung von LCModel**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen**

**vorgelegt von
Männlin, Simon Johannes
2020**

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. U. Klose

2. Berichterstatter: Professor Dr. K. Scheffler

Tag der Disputation: 29.07.2020

Inhaltsverzeichnis

ABBILDUNGSVERZEICHNIS	5
TABELLENVERZEICHNIS	6
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	7
1 EINLEITUNG	9
1.1 IN VIVO 1H MAGNETRESONANZSPEKTROSKOPIE IM MENSCHLICHEN GEHIRN	9
1.2 GLUTAMAT- UND GLUTAMINBESTIMMUNG IM GEHIRN MITTELS MRS	12
1.3 LAKTATBESTIMMUNG IM GEHIRN MITTELS MRS	13
1.4 MRS IN HIRNTUMOREN	14
1.5 ZUSAMMENFASSUNG ZUM AKTUELLEN FORSCHUNGSSTAND UND FORMULIERUNG DER FRAGESTELLUNGEN UND HYPOTHESEN	16
2 METHODEN	17
2.1 GRUNDLAGEN DER 1H-MAGNETRESONANZSPEKTROSKOPIE	17
2.1.1 PHYSIKALISCHE GRUNDLAGEN	17
2.1.2 AKQUIRIERUNG VON SPEKTREN MITTELS MAGNETRESONANZSPEKTROSKOPIE	18
2.1.3 AUSWERTUNG VON IN-VIVO 1H MR SPEKTREN	20
2.2 REKRUTIERUNG DER PATIENTEN ZUR QUANTIFIZIERUNG VON LAKTAT	22
2.3 REKRUTIERUNG DER PROBANDEN ZUR QUANTIFIZIERUNG VON GLUTAMAT UND GLUTAMIN	24
2.4 DATENERHEBUNG / MESSUNGEN	25
2.4.1 LAKTATQUANTIFIZIERUNG	25
2.4.2 GLUTAMAT- UND GLUTAMINQUANTIFIZIERUNG	27
2.5 SPEKTRALE ANALYSE MIT LCMODEL	28
2.5.1 ERSTELLEN DER LCMODEL-BASISDATENSÄTZE	28
2.5.2 ERSTELLEN DES LCMODEL-CONTROLFILES	32
2.5.3 BESTIMMUNG DER LAKTATKONZENTRATIONEN IN HIRNTUMOREN	34
2.5.4 BESTIMMUNG DER GLUTAMAT- UND GLUTAMINKONZENTRATIONEN IM MENSCHLICHEN GEHIRN	35
3 ERGEBNISSE	37
3.1 DATENERHEBUNGEN/ MESSUNGEN	37
3.1.1 LAKTATQUANTIFIZIERUNG	37
3.1.2 QUANTIFIZIERUNG VON GLUTAMAT UND GLUTAMIN	41
3.2 SPEKTRALE ANALYSE MIT LCMODEL	47
3.2.1 BESTIMMUNG VON LAKTAT IN HIRNTUMOREN	47
3.2.2 BESTIMMUNG VON GLUTAMAT UND GLUTAMIN IM MENSCHLICHEN GEHIRN	50
4 DISKUSSION	61
4.1 QUANTIFIZIERUNG VON LAKTAT IN HIRNTUMOREN	61
4.1.1 DISKUSSION DER METHODIK UND DER ERGEBNISSE	61
4.1.2 LIMITATIONEN DER ARBEIT UND METHODISCHE EINSCHRÄNKUNGEN	67

4.2	QUANTIFIZIERUNG VON GLUTAMAT UND GLUTAMIN IM GESUNDEN GEHIRN	68
4.2.1	DISKUSSION DER METHODIK UND DER ERGEBNISSE	68
4.2.2	LIMITATIONEN DER ARBEIT UND METHODISCHE EINSCHRÄNKUNGEN	75
5	ZUSAMMENFASSUNG	77
6	LITERATURVERZEICHNIS	79
7	ERKLÄRUNGEN ZUM EIGENANTEIL DER DISSERTATIONSSCHRIFT	84
8	DANKSAGUNG	85

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: MR_Spektrum aus Hajek M., Dezortova M., Europ. J. of Rad. 67, p.192, 2008.	10
Abb. 2: Tumorspektrum TE=135ms, 3T. Spektrum und Basislinie schwarz. Anpassung durch Analyse-Software LCMoel rot.	14
Abb. 3: Verlauf der Auswahl der ausgewerteten Patientenspektren	23
Abb. 4: Ideale Sequenzdiagramme der MRS-Sequenzen PRESS (A) und SLASER (B). Aus VeSPA-Simulations-Manual [1].	29
Abb. 5: Arbeitsschritte der Auswertung der Spektren zur Quantifizierung von Glutamat und Glutamin.	36
Abb. 6: T2 gewichtete MRTs der fünf in die Auswertung eingeschlossenen Patienten.	37
Abb. 7: Spektrum eines Voxels aus Tumorgewebe eines Patienten.	39
Abb. 8: Spektrum eines Voxels aus Tumorgewebe eines Patienten.	39
Abb. 9: Spektrum eines Voxels aus Tumorgewebe eines Patienten.	40
Abb. 10: Spektrum eines Voxels aus Tumorgewebe eines Patienten.	40
Abb. 11: Spektrum eines Voxels aus Tumorgewebe eines Patienten.	41
Abb. 12: T2 gewichtete MRT-Aufnahmen in drei Ebenen am Beispiel eines Probanden.	42
Abb. 13: Positionierung der MR-Spektroskopie in drei Ebenen.	42
Abb. 14: Oben: Gemessenes Spektrum im Großhirn eines gesunden Probanden.	43
Abb. 15: Gemittelte Spektren bei TE=135 ms. Obiges Spektrum akquiriert mittels PRESS-Sequenz, unteres Spektrum akquiriert mittels Semi-LASER-Sequenz.	45
Abb. 16: Gemittelte Spektren aller 10 Probanden bei der Echozeit 135ms. Oben PRESS-Sequenz. Unten Semi-LASER-Sequenz.	46
Abb. 17: MR-Tumorspektrum ausgewertet via LCMoel unter Einsatz der Einstellungen A-C.	48
Abb. 18: Basisspektrum von NAA, simuliert mit VeSPA-Simulations. PRESS-Sequenz, 3T, TE=40ms, BW=1Hz.	51

Abb. 19: Basisspektrum von Kreatin, simuliert mit VeSPA-Simulations. PRESS-Sequenz, 3T, TE=40ms, BW=1Hz.	51
Abb. 20: Basisspektrum von Gesamtcholin, simuliert mit VeSPA-Simulations. PRESS-Sequenz, 3T, TE=40ms, BW=1Hz.	51
Abb. 21: Auswertung der Spektren mit PRESS und Basisdatensatz A.	53
Abb. 22: Auswertung der Spektren mit PRESS und Basisdatensatz B.	54
Abb. 23: Auswertung der Spektren mit PRESS und Basisdatensatz C.	55
Abb. 24: Auswertung der Spektren mit SLASER und Basisdatensatz A.	57
Abb. 25: Auswertung der Spektren mit SLASER und Basisdatensatz B.	58
Abb. 26: Auswertung der Spektren mit SLASER und Basisdatensatz C.	59
Abb. 27: Gemittelte Konzentrationswerte von Glutamat, Glutamin, Glx und Kreatin bei Auswertung mit dem 17 Metaboliten enthaltenden Basisdatensatz A im Verlauf mit der Echozeit.	60

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: LCModel Auswertungseinstellungen A - C zur Quantifizierung von Laktat.	35
Tab. 2: Signal-Rausch-Verhältnis der gemittelten ausgewerteten Spektren eines einzelnen Probanden.	47
Tab. 3: Mittlere Cramér-Rao Ratios (CRLB) von Laktat, Cholin, NAA+NAAG und Kreatin.	49
Tab. 4: Mittlere Konzentrationswerte von Laktat, Cholin, NAA+NAAG und Kreatin.	50
Tab. 5: Relative Konzentrationswerte von Laktat, Gesamtcholin und Gesamt-NAA relativ zur Gesamtkreatinkonzentration.	50

Abkürzungsverzeichnis

¹ H	Wasserstoffkern
Acc	Gyrus cinguli anterior
Abb.	Abbildung
BASING	Band selective inversion with gradient dephasing
CDP-Cho	Cytidin-Diphosphocholin
CHESS	Chemical shift elective saturation
CNI	Cholin-NAA-Index
COSY	Correlation Spectroscopy
Cr	Kreatin
CRLB	Cramér-Rao lower bounds
CSD	Chemical Shift Displacement
CSI	Chemical Shift Imaging
CT	Computertomographie
Da	Dalton
DOSY	Diffusion Ordered Spectroscopy
EAA-Transporter	Excitatory Amino Acids Transporter
ECC	Eddy current correction
FID	Free Induction Decay
FOV	Field of View
GABA	Gamma-Aminobuttersäure
Glc	Glukose
GLAST	Glutamat Aspartat Transporter
Gln	Glutamin
GLT	Glutamat-Transporter
Glu	Glutamat
GluCEST	Glu-Amino-Group-Water Chemical Exchange Saturation Transfer
GPC	Glycerophosphocholin
GSH	Glutathion
Hc	Hippocampus
IDH	Isocitrat-Dehydrogenase
i.d.R.	In der Regel
Lac	Laktat
LDH	Laktatdehydrogenase
M	Mol
M _L	Longitudinale Magnetisierung

mM	Millimol
MR	Magnetresonanz
MRI	Magnetic Resonance Imaging
MRS	Magnetresonanztomographie
MRT	Magnetresonanztomographie
M _T	Transversale Magnetisierung
NAA	N-Acetyl-Aspartat
NAAG	N-Acetylaspartylglutamat
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
PCh	Phospho-Cholin
PCr	Phospho-Kreatin
ppm	Parts per Million
PRESS	Point Resolved Spectroscopy
RF	Radiofrequenz
Semi-LASER	Localisation by Adiabatic Selective Refocusing
SNR	Signal to Noise Ratio
STEAM	Stimulated Echo Acquisition Mode
SVS	Single Voxel Spectroscopy
T	Tesla
TE	Echo Time
TI	Inversion Time
TR	Repetition Time
VeSPA	Versatile Simulation, Pulses and Analysis
VOI	Volume of Interest
ZNS	Zentrales Nervensystem

1 Einleitung

Die vorliegende Dissertation beschäftigt sich mit der Quantifizierung verschiedener Metaboliten mittels In-Vivo-¹H-Magnetresonanztomographie, sowohl im physiologischen menschlichen Gehirn, als auch in Hirntumoren. Dazu gliedert sich diese Arbeit in zwei verschiedene Projektteile. Ziel des ersten Projektteils „Quantifizierung von Laktat in Hirntumoren“, ist die Etablierung einer modifizierten Auswertungsmethode zur verbesserten Messung von Laktat in Tumorspektren von Hirntumorpatienten. Dazu wurden aus Tumorspektren von 34 Patienten 20 Spektren ausgewählt, die dann mittels des Auswertungsprogramms LCModel unter Einsatz einer modifizierten Methode ausgewertet wurden.

In dem zweiten Projektteil „Quantifizierung von Glutamat und Glutamin im Gehirn“, wird die Möglichkeit einer suffizienten Quantifizierung der beiden, physiologischer Weise im Gehirn vorkommenden, Metaboliten Glutamat und Glutamin im gesunden menschlichen Gehirn beleuchtet. Dazu wurden 15 Probanden mittels MRT und MRS untersucht und dann ebenfalls mit Hilfe von LCModel ausgewertet.

Im Folgenden soll inhaltlich zu diesen beiden Problemstellungen hingeführt werden.

1.1 In vivo ¹H Magnetresonanztomographie im menschlichen Gehirn

Im Rahmen der Durchführung einer in-vivo ¹H MRS eines menschlichen Gehirns sind vier verschiedene Gruppen von Metaboliten von theoretischem oder praktischem Interesse [2]:

1. Wasser
2. Lipide und Makromoleküle
3. Metaboliten mit einer Masse kleiner 2000 Da und einer Konzentration größer 1 mM
4. Metaboliten mit einer Masse von ca. 2000 Da und einer Konzentration kleiner 1 mM

Wasser liegt im Gehirn in einer Konzentration von ungefähr 40 M vor und dessen Signal muss deshalb in der Regel bei MR-Spektroskopie (MRS) Messungen anderer Metaboliten supprimiert werden. Auch verschiedene Lipide liegen zum Beispiel in der Fettschicht der Schädelkalotte in hohen Konzentrationen vor und können MR-Spektren stören. Auch ihre

Signale werden oftmals supprimiert. Dazu werden Suppressorschichten in allen drei Raumrichtungen über das Fett der Kalotte gelegt. Sie ergeben sonst zusammen mit den Makromolekülen ausgedehnte Signale, die eine korrekte Quantifizierung von anderen Metaboliten erschweren oder verhindern. Die Metaboliten der dritten Gruppe sind in der Regel mit konventionellen MRS Methoden quantifizierbar und in verschiedensten Fragestellungen von Interesse. Auch die Metaboliten der Gruppe 4 sind von Interesse für Klinik und Forschung und theoretisch mittels ^1H MRS in-vivo quantifizierbar. Aufgrund der Beschränkungen in Messzeit und Spektrenqualität ist es allerdings nur schwer oder mit Hilfe von speziellen Methoden möglich, die Signale dieser Metaboliten zu messen.

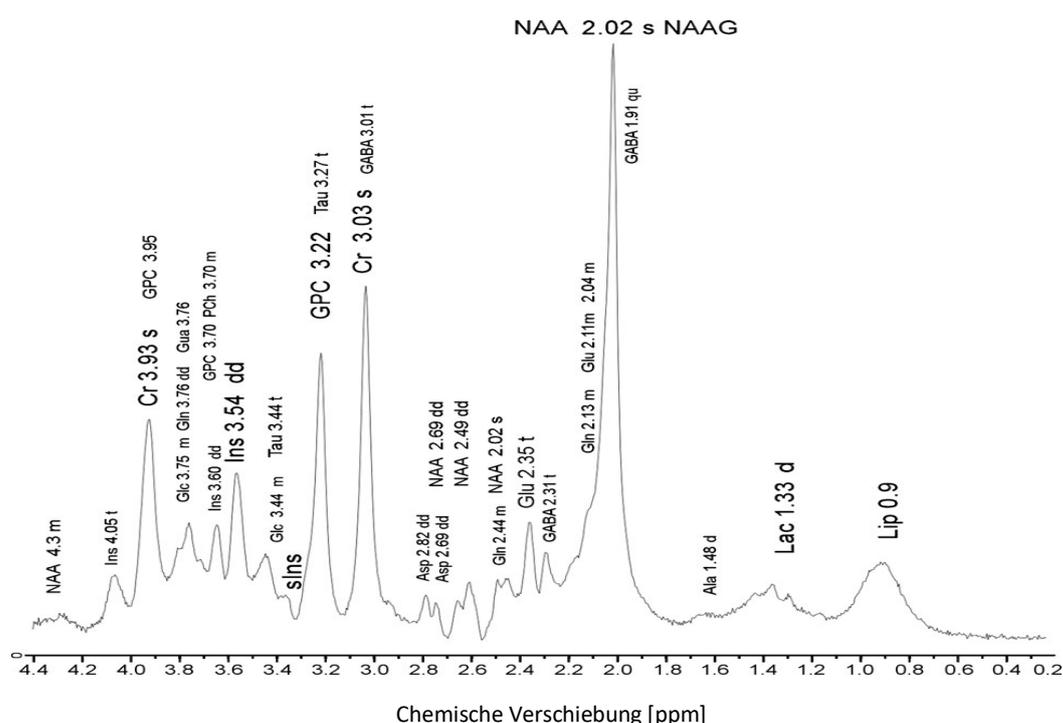


Abb. 1: MR_Spektrum aus Hajek M., Dezortova M., *Europ. J. of Rad.* 67, p.192, 2008.
s: Singlett, d: Dublett, t: Triplett, dd: Dublett eines Dubletts, m: Multiplett

Abb. 1 zeigt ein Beispielspektrum aus dem Gehirn eines gesunden Probanden nach Durchführung von Phasenkorrektur, Basislinienkorrektur und Anpassung an Makromolekülsignale mittels LCMoDel. Zu den wichtigsten mittels in-vivo ^1H MRS quantifizierbaren Metaboliten im menschlichen Gehirn zählen [2] [3]:

N-Acetyl-Aspartat (NAA)

NAA stellt im MR-Spektrum des gesunden Gehirns das prominenteste Signal. Dieser ist ein Singlett bei 2,1ppm und rührt von der Methylgruppe des NAA her. Weitere Resonanzen liegen in Form von Dubletts bei 2,49 ppm, 2,67 ppm und 4,38 ppm vor. NAA tritt im menschlichen Körper ausschließlich im zentralen und peripheren Nervensystem auf. Es dient sowohl als Marker von neuronaler Dichte als auch als Referenzmetabolit, da dessen Konzentration relativ unabhängig von Stoffwechselstörungen ist.

Kreatin/ Phosphokreatin (Cr/ PCr)

Kreatin und Phosphokreatin kommen im menschlichen Gehirn in neuronalen und glialen Zellen vor. Beide stellen prominente Singletts bei 3,01 ppm und 3,9 ppm dar, die jeweils von der Methyl- und Methylengruppe herrühren. Die Unterschiede in den Resonanzen der Protonen beider Metaboliten sind so gering, dass diese erst ab 7 T Feldstärke detektiert werden können [2]. Beide Metaboliten spielen eine wichtige Rolle im Energiestoffwechsel des Körpers und dienen in der in-vivo ^1H MRS als Marker von Energiestoffwechsel [4].

Cholinmetaboliten Glycerophosphocholin und Phosphocholin (GPC und PCh)

Neben den Signalen von NAA und den Kreatinmetaboliten ist der Spektrumsgipfel bei 3,2 ppm der Cholinmetaboliten das dritte, starke, auffällige Signal in in-vivo ^1H MR-Spektren des Gehirns. Eine weitere Resonanzfrequenz liegt bei 3,7 ppm. Das Signal rührt hauptsächlich von den beiden Metaboliten GPC und PCh her. So können GPC und PCh als Marker von Zellmembranen genutzt werden. Ihre Konzentration ist im erwachsenen Gehirn relativ konstant, variiert aber von Hirnregion zu Hirnregion. Die Erhöhung der Cholinkonzentration im Hirn ist ein suffizienter Marker für pathologische Prozesse wie Zellproliferation oder Inflammation [5].

Neben den genannten Metaboliten existieren zahlreiche weitere, die mittels MRS quantifiziert werden können. Diese bedingen aber nur selten solch deutliche Signale wie die genannten Metabolite. Das liegt an der oft sehr geringen Konzentration, sowie an der molekularen Zusammensetzung der Stoffe.

1.2 Glutamat- und Glutaminbestimmung im Gehirn mittels MRS

Die beiden Metaboliten Glutamat (Glu) und Glutamin (Gln) gehören zu den mittels in-vivo ^1H MRS quantifizierbaren Metaboliten im menschlichen Gehirn. Beide sind für den menschlichen Organismus und insbesondere dessen Stoffwechsel sehr wichtige Metaboliten. Glu ist zudem der wichtigste exzitatorische Neurotransmitter im ZNS. Die Aminosäuren kommen reichlich im menschlichen Gehirn vor, mit Konzentrationen von 6-13 mmol/kg (Glu) und 3-6mmol/kg (Gln) [4].

Glu und Gln rotieren innerhalb des Glu-Gln-Zyklus zwischen Neuronen und Astrozyten und werden dabei ineinander umgewandelt. Ein balancierter Kreislauf zwischen glialer Gln-Synthese und astrozytärer Umwandlung in Glu ist elementar wichtig für eine physiologische Hirnfunktion [6] [7]. Dabei wird Glutamat als erregender Neurotransmitter von Neuronen in den synaptischen Spalt abgegeben, sodass eine Erregung der nachfolgenden Zellen mittels Aufnahme des Glu durch EAA-Transporter stattfindet. Das Glu wird dann von Astrozyten aufgenommen via den Enzymen GLT1 und GLAST, um Übererregung zu vermeiden [8]. Mithilfe der Gln-Synthetase wird das Glu dann in Astrozyten zu Gln umgewandelt. Kleine Mengen Gln werden ebenfalls aus GABA synthetisiert [9] [10]. Gln wird dann von den Astrozyten abgegeben und wiederum von Neuronen aufgenommen. Dort wird es mittels der Glutaminase wieder in Glu umgewandelt. Hier wird auch GABA und Glutathion (GSH) aus Glu hergestellt. Die Bedeutung dieses Zyklus für den Organismus kann auch anhand des Fakts erkannt werden, dass 80% des Glukose-Bedarfs im Gehirn von diesem herrührt [11].

Zahlreiche Studien berichten von einer Änderung der Glu- und Gln-Konzentration im physiologischen sowie pathologischen Gehirn. Erkrankungen, bei denen eine Änderung der Konzentrationen beider Metaboliten im Gehirn mittels in-vivo ^1H MRS nachgewiesen wurden sind: Depression [12], Schizophrenie [13], Alkohol- und Drogenabusus [14, 15], Neurodegenerative Erkrankungen [16], in den Läsionen multipler Sklerose [17], Epilepsien [18, 19], Hepatische Enzephalopathie [20], Hirntumoren [21, 22] und Hirntraumata [23].

Die getrennte Quantifizierung von Glutamat und Glutamin via in-vivo ^1H MRS unter klinischen Bedingungen, insbesondere unter Verwendung eines MR-Scanners mit maximal 3T Feldstärke, stellt eine große Herausforderung dar. Dies liegt in mehreren Faktoren begründet. Die Resonanzfrequenzen von Glu und Gln liegen sehr dicht beieinander, da sich die Strukturformeln beider Metaboliten nur wenig unterscheiden. Diese überschneiden sich dabei insbesondere im Bereich zwischen 2,1 ppm und 2,5 ppm sowie ca. bei 3,7 ppm [4]. Da beide Metaboliten zudem stark koppelnde Spinsysteme aufweisen und ihre Spektren von den Spektren anderer Metaboliten überdeckt werden, sind beide schwer zu quantifizieren. Zudem gibt es mit GSH und NAAG zwei Metaboliten im Gehirn, die ihrerseits Glu enthalten und die so nur leicht in ihren Resonanzfrequenzen von reinem Glu abweichen, was ebenfalls eine Herausforderung in der korrekten Quantifizierung der Signale dieser Metaboliten darstellt.

1.3 Laktatbestimmung im Gehirn mittels MRS

Der Metabolit Laktat ist ebenfalls im menschlichen Gehirn mithilfe von in-vivo ^1H MRS quantifizierbar. In gesundem Hirngewebe liegt Laktat allerdings in solch kleinen Konzentrationen von ungefähr 0,5 mM vor [24], dass eine Quantifizierung in-vivo nur mithilfe spezieller MRS Methoden möglich ist. Laktat stellt das Endprodukt der anaeroben Glykolyse dar. Steht zur weiteren Metabolisierung von Pyruvat als Metabolit der Glykolyse kein Sauerstoff als Elektronenakzeptor zur Verfügung, so wird Pyruvat von der Laktatdehydrogenase (LDH) zu Laktat reduziert [25]. Daraus folgend wird klar, dass im Gehirn vor allem in hypoxischem Gewebe eine hohe Laktatkonzentration vorliegt. Dies ist insbesondere der Fall in Gewebe, das von einem Schlaganfall betroffen ist [26]. Außerdem liegt eine erhöhte Laktatkonzentration in Hirntumoren [27] sowie in traumatischem Hirngewebe vor [28]. Erhöhte Konzentrationen von Laktat im Gehirn wurden zudem bei Hyperventilation beobachtet [29].

In der in-vivo ^1H MRS weist Laktat ein charakteristisches Dublett bei 1,31 ppm auf, sowie ein Quartett bei 4,1 ppm. Bei der Quantifizierung des Metaboliten spielt das Signal bei 4,1 ppm kaum eine Rolle, da er in der Nähe des Wassersignals liegt. Das Dublett bei 1,31 ppm kann dagegen gut zur Quantifizierung genutzt werden, wird allerdings oftmals stark

von Lipidsignalen, die bei 1,3 ppm liegen, überlagert. Diese rühren vor allem von dem Fett der Schädelkalotte her. In der Regel wird deshalb Laktat unter Einsatz einer langen Echozeit von oftmals 135 ms in der in-vivo ^1H MRS bestimmt [4], da bei langen Echozeiten die Lipidsignale verringert sind. Zudem kann mit Sättigung der Lipidsignale gearbeitet werden.

1.4 MRS in Hirntumoren

In der Forschung, klinischer Diagnostik und Follow-up von Hirntumoren spielt die in-vivo ^1H MRS eine wichtige Rolle als zusätzliche Methodik neben der MRT. So ist es möglich, Informationen über die Veränderungen des neurometabolischen Profils in Hirntumoren, verglichen mit gesundem Hirngewebe, zu gewinnen. Abb. 2 zeigt ein typisches Beispiel eines in-vivo ^1H MR-Spektrums aus einem Hirntumor eines Menschen. Insbesondere das NAA-Signal ist deutlich reduziert, während das Cholin signal auf eine vermehrte Konzentration hinweist. Zudem weisen die erhöhten Signale von Laktat und Lipiden auf eine vergrößerte Konzentration hin.

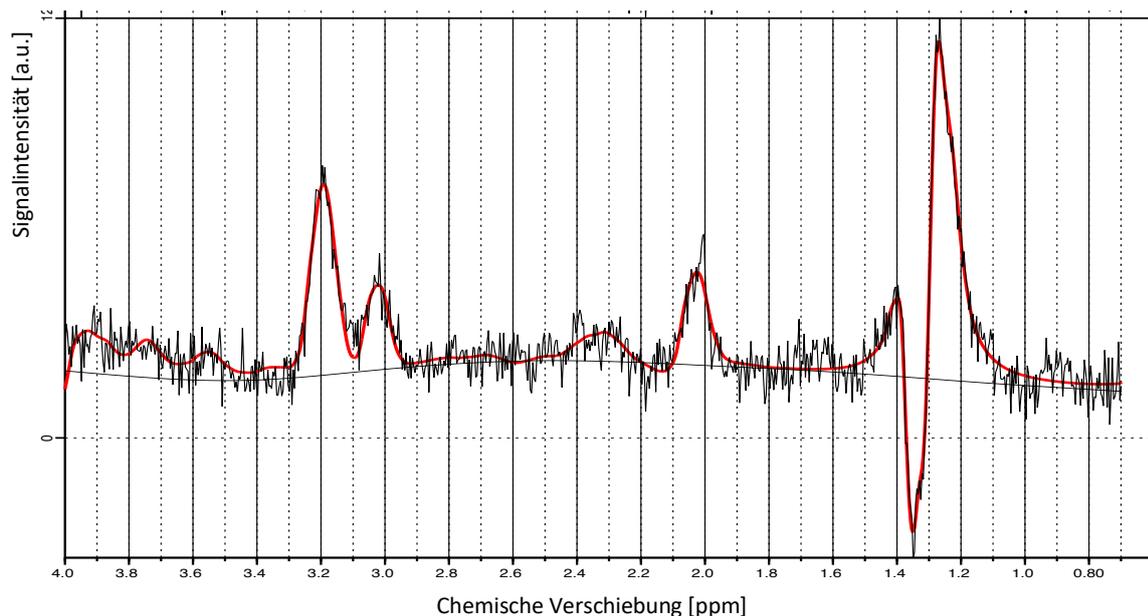


Abb. 2: Tumorspektrum $TE=135\text{ms}$, $3T$. Spektrum und Basislinie schwarz. Anpassung durch Analyse-Software LCMoel rot.

Einige der beschriebenen Metaboliten liegen in Hirntumoren in veränderten Konzentrationen vor und bieten so die Möglichkeit, Tumoren anhand dieser Änderungen mittels in-vivo ^1H MRS zu untersuchen.

Der Metabolit NAA ist ein Marker für neuronale Zellen. Daraus erklärt sich, dass dessen Konzentration in Gliomen vermindert ist, da neuronale Zellen von glialen proliferierenden Tumorzellen verdrängt werden und untergehen [30]. Ein weiterer zuverlässiger Marker in der in-vivo ^1H MRS von Hirntumoren stellen die Choline dar. Da sie ein Marker für Zellproliferation und Signalaktivität sind, liegen sie in erhöhter Konzentration im Tumorgewebe vor. In der klinischen Diagnostik kann so der Cholin-NAA-Index (CNI) erhoben werden, anhand dessen Tumorentität und Tumorgrad unterschieden [31] werden können. Außerdem können auf diese Weise besonders aggressive Areale im Tumor detektiert werden [32].

Der Dritte der drei im MR-Spektrum auffälligsten Metaboliten, Kreatin (Cr+PCr), ändert sich dagegen auch wenig in Hirntumoren und kann so oftmals als Referenz verwendet werden. Allerdings muss trotzdem mit Vorsicht vorgegangen werden, da von Änderungen der Kreatinkonzentration in höhergradigen Gliomen berichtet wurde [33]. Wie in 1.3 beschrieben, liegt Laktat als Marker anaeroben Stoffwechsels in erhöhter Konzentration in Hirntumoren vor [34]. Ebenso liegen freie Lipide und Triacylglyceride als Nekrosemarker vermehrt vor [35]. Erhöhte Laktat- und Lipidkonzentrationen in einem Tumor sprechen in der Tendenz für einen höhergradigen Tumor, was mit einer verminderten Überlebenszeit für betroffene Patienten einhergeht. [36]

Neben den genannten Metaboliten findet in Hirntumoren ebenfalls eine Änderung der Konzentration von Metaboliten statt, die nur mittels kurzen Echozeiten messbar sind. So kann anhand der Glu- und Gln-Konzentration eine Unterscheidung zwischen Oligodendrogliomen und Astrozytomen vorgenommen werden [37]. Auch Myo-Inositol kann vermehrt in Gliomen gemessen werden [38]. Einige Arbeiten postulieren Glycin ebenso als einen Marker, der tendenziell in Gliomen vermehrt vorliegen kann [39]. In Gliomen, in deren Zellen die Mutation der IDH-1 vorliegt, kann außerdem eine erhöhte Konzentration von 2-HG via in-vivo ^1H MRS gemessen werden [40]. Dies geht mit einer verbesserten Prognose in Hinsicht auf die Überlebenszeit der Patienten einher [41].

1.5 Zusammenfassung zum aktuellen Forschungsstand und Formulierung der Fragestellungen und Hypothesen

Da Laktat in Hirntumoren mit einer hohen Konzentration von $4,1 \pm 3,4$ bis $7,0 \pm 4,7$ mM [42] vorliegt, ist eine in-vivo Quantifizierung mittels ^1H MRS möglich und häufig erfolgreich. Ein Problem, was dennoch bei der Messung von Laktat in Hirntumoren vorliegt, ist die Kontamination des Laktatdubletts bei 1,31 ppm durch Lipidsignale, die insbesondere bei 1,3 ppm und 0,9 ppm ausgeprägt vorliegen können. Dieser Sachverhalt spielt insbesondere bei der Spektrenakquirierung mit kleinen Echozeiten eine wichtige Rolle. Auer et al. konnten 2001 zeigen, dass eine günstige Herangehensweise zur Trennung des Laktatsignals von den Lipidsignalen mittels LCModel die Simulation von Lipidsignalen und die Etablierung dieser Signale im LCModel Basisdatensatz ist [43]. Stephen W. Provencher griff diese Idee auf und schlägt standardmäßige Lipidsignale bei 0,9 ppm, 1,3 ppm und 2,0 ppm für die Auswertung mit LCModel vor [44].

Grundlage dieser Arbeit ist die Überlegung, dass bei Spektrenakquirierung mit langen Echozeiten Signale von Lipiden aufgrund ihrer kurzen T₂-Zeiten nur eine kleinere Rolle spielen, sodass die simulierten Lipidsignale modifiziert werden können um eine verbesserte Quantifizierung von Laktat in Hirntumoren zu erreichen. Dazu wurden 20 in-vivo MR Spektren aus Hirntumoren via LCModel analysiert.

Hypothese:

Das Laktatsignal in Hirntumoren ist mittels der modifizierten Auswertungsmethode mit LCModel besser messbar als mit der Standardauswertung mit LCModel. Auch die CRLB-Werte werden dabei kleiner ausgegeben.

Die Quantifizierung von Glutamat und Glutamin mittels in-vivo ^1H MRS im gesunden Gehirn stellt aufgrund der gekoppelten Spinsysteme und der kleinen Konzentration von insbesondere Glutamin eine große Herausforderung dar. Zudem überlappen die Signale beider Metaboliten mit denen von NAA und GSH. Es gibt verschiedenste Ansätze, die beiden Metaboliten mittels MRS in-vivo zu quantifizieren. Publiziert wurde so unter anderem der Ansatz der gemeinsamen Bestimmung von Glu und Gln als Glx [45], die Mittelung verschiedener Spektren [46, 47] und die Bestimmung einer optimalen Echozeit zur Quantifizierung [48, 49].

Diese drei methodischen Ansätze werden in dieser Arbeit aufgegriffen um auf ein Auswertungsprotokoll hinzuzuführen, das auch im klinischen Setting eine Quantifizierung von Glu und Gln mit einem 3T MR-Scanner erlaubt. Dazu wurden 15 gesunde Probanden mittels MRT und MRS untersucht und die Spektren mit LCModel ausgewertet.

Hypothese 1:

Glutamat und Glutamin sind mittels der von uns verwendeten Methodik sicher getrennt quantifizierbar.

Hypothese 2:

Mittels der Spektrenakquirierung bei multiplen Echozeiten kann gezeigt werden, dass die Quantifizierung von Glutamat und Glutamin mittels LCModel konsistent ist.

2 Methoden

2.1 Grundlagen der ¹H-Magnetresonanzspektroskopie

2.1.1 Physikalische Grundlagen

Chemische Verschiebung

Als chemische Verschiebung δ wird die Abweichung der Resonanzfrequenzen von Protonen untereinander in unterschiedlichen molekularen Umgebungen bezeichnet. Ursache dieses Phänomens ist die magnetische Suszeptibilität aufgrund der Abschirmung von einzelnen Protonen durch Moleküle. Die Stärke der Abschirmung der Protonen von einem magnetischen Feld ändert sich so abhängig davon, in welchem Molekül diese Protonen angeordnet sind. Die chemische Verschiebung wird in der Regel als die Abweichung der Resonanzlinie eines Metaboliten ν_M von der Resonanzfrequenz ν_R eines Referenzmetaboliten in parts per million (ppm) angegeben:

$$\delta = \frac{\nu_M - \nu_R}{\nu_R}$$

Das Konzept der chemischen Verschiebung stellt letzten Endes eines der Grundprinzipien der MRS-Bildgebung dar.

Spin-Spin Kopplung

Eine weitere wichtige Eigenschaft von Molekülen, die einem Magnetfeld ausgesetzt sind, ist die Spin-Spin Kopplung, auch Skalar-Kopplung oder J-Kopplung genannt. Es wird hierbei zwischen der direkten Spin-Spin Kopplung, die ausschließlich in Festkörpern auftritt und daher in dieser Arbeit weniger relevant ist und der indirekten Kopplung unterschieden. Quantenmechanische Phänomene führen in NMR-Spektren zu einer Aufspaltung von Resonanzlinien in mehrere einzelne Linien.

Im Fall der ^1H MR-Spektroskopie beeinflussen sich die nicht-äquivalenten Protonen in unterschiedlichen Bindungsgruppen eines Moleküls untereinander mittels ihrer Elektronen. Durch diese minimalen Änderungen des Magnetfeldes, das auf ein Proton wirkt, ändert sich dessen Resonanzfrequenz leicht, sodass je nach Orientierung mehrere Resonanzfrequenzen möglich sind und so eine Aufspaltung in mehrere Resonanzlinien im Spektrum stattfindet.

2.1.2 Akquirierung von Spektren mittels Magnetresonanztomographie

Die MRS ist eine Methode im Bereich der MR-Bildgebung, um in vivo mittels Magnetresonanz den menschlichen Körper zu untersuchen. Dabei werden, wie oben erklärt, Spektren anhand der Resonanzfrequenzen von Atomkernen von sich im Gewebe befindlichen Metaboliten erstellt. Anhand dieser Spektren kann dann das Vorkommen jener Metaboliten in verschiedenen Gewebetypen quantifiziert werden. Diese vorliegende Arbeit befasst sich lediglich mit der ^1H -Protonen-Spektroskopie. Der Wasserstoffkern ist bei weitem der sensitivste Kern für die NMR [3]. Allerdings kann MRS ebenfalls an anderen Atomkernen praktiziert werden. Insbesondere die ^{31}P -MRS und die ^{13}C -MRS spielen eine Rolle in der Wissenschaft.

Akquirierung von NMR-Spektren

Zwei oben genannte physikalisch-chemische Prinzipien sind für die Signalakquirierung von MR-Spektren zugrundeliegend. Dies sind die chemische Verschiebung und die Spin-Spin Kopplung. Anhand der chemischen Verschiebung werden Intensitäten von Resonanzsignalen in Form von Resonanzlinien erhoben. Aufgrund der Spin-Spin Kopplung vieler Metaboliten kommt es zudem zu einer Aufspaltung der Resonanzfrequenzen der Protonen in mehrere Einzellinien wie in 2.1.1 erklärt [3].

Grundsätzlich werden zwei verschiedene Verfahren der Voxellokalisierung unterschieden. Mittels der Einzel-Voxel-Spektroskopie (SVS) ist es möglich, ein einzelnes Spektrum zu akquirieren, welches Informationen aus einem definierten Volumen (Voxel) wiedergibt. Hierzu wird die Kombination von drei orthogonal zueinanderstehenden Schichtgradienten angewendet, die gemeinsam mit mehreren RF-Pulsen appliziert werden. Beispiele für diese Art der Voxellokalisierung sind die SVS-Sequenzen „PRESS“ (point resolved spectroscopy) und „STEAM“ (simulated echo acquiring method) [50-52].

Die Multivoxel-Spektroskopie (CSI) ermöglicht die Akquirierung von mehreren Spektren aus je einem Voxel innerhalb einer Schicht zur selben Zeit. Diese erfolgt meistens in einem Quadrat mit in der Regel 16x16 oder 32x32 Voxel. Diese Art der MR-Spektroskopie wurde im Rahmen dieser Arbeit verwendet und wird im nächsten Abschnitt näher beleuchtet.

Zur Akquirierung müssen verschiedene Parameter festgelegt werden und im MR-Scanner angegeben werden, um sinnvolle Spektren zu erhalten. Dazu gehören vor allem die Echozeit TE und die Repetitionszeit TR. Zur erfolgreichen Messung eines bestimmten Metaboliten mit gekoppelten Spinsystemen ist es dabei unerlässlich, eine geeignete Echozeit zu wählen. Des Weiteren ist das Gesichtsfeld (FOV) ein wichtiger Parameter, der zur Messung ausgewählt und angegeben werden muss. Die benötigte Schichtdicke und das Volume von Interesse (VOI) müssen ebenfalls angegeben werden. Bei einer CSI Messung muss zudem die Matrixgröße angegeben werden; d.h. wie viele Voxel das FOV enthalten soll.

Multi-Voxel MR-Spektroskopie (CSI MRS)

In den Experimenten dieser Dissertation wurden die beiden CSI Sequenzen CSI PRESS (point resolved spectroscopy) und Semi-LASER (localisation by adiabatic selective refocusing) verwendet [53-55]. Im Projektteil „Quantifizierung von Laktat in Hirntumoren“ wurden ausschließlich Spektren analysiert, die mittels PRESS Sequenz akquiriert wurden. Im Projektteil „Quantifizierung von Glutamat und Glutamin“ wurden Spektren unter Verwendung von PRESS-Sequenz und Semi-LASER Sequenz akquiriert, ausgewertet und verglichen.

Im Gegensatz zur Voxellokalisierung bei der SVS werden bei CSI Sequenzen nicht nur Schichtgradienten, sondern auch phasenkodierende Gradienten verwendet. Die Applizierung der phasenkodierenden Gradienten führt zu einer Phasenverschiebung der Dipole im angeregten Volumen in Abhängigkeit von deren Lokalisation. Mittels Fourier Transformation kann so ein zweidimensionales Raster, bestehend aus einzelnen Voxeln, die jeweils ein Spektrum aufweisen, berechnet werden. Es entsteht innerhalb einer Schicht ein FOV mit i.d.R. 16x16 Voxel und damit Spektren. Damit besteht bei Durchführung einer CSI die Möglichkeit, sogenanntes Mapping zu betreiben.

Dabei werden auf Grundlage der relativen Konzentrationen eines bestimmten Metaboliten in den Voxeln einer Schicht sogenannte Schichtkarten erstellt, die dann mit entsprechenden MRT- oder CT-Schnittbildaufnahmen in Deckung gebracht werden können.

Die CSI PRESS Sequenz ist im Wesentlichen gegenüber der SVS PRESS Sequenz dahingehend modifiziert, dass Phasengradienten in Y- und X-Richtung zusätzlich angelegt werden.

Bei der Semi-LASER Sequenz folgen auf den initialen 90° RF-Puls vier adiabatische 180° RF-Pulse. Schichtgradienten und Phasengradienten werden zur Voxellokalisierung eingesetzt. Adiabatische RF-Pulse stellen RF-Pulse dar, die sich adiabatischen Prinzipien bedienen. Das Besondere an adiabatischen Pulsen ist ihre Eigenschaft, ab einer ausreichend großen Amplitude des RF-Pulses, einen bestimmten Nutationswinkel zu applizieren. Damit ist das applizierte magnetische Feld B_1 deutlich homogener als bei klassischen RF-Pulsen.

2.1.3 Auswertung von in-vivo ^1H MR Spektren

In diesem Abschnitt wird kurz auf die Auswertung von in-vivo ^1H MR Spektren eingegangen. Die MR-Spektroskopie ist per se keine quantitative Methode, da die Spektren akquiriert werden, ohne dass daraus unmittelbar absolute Konzentrationen von bestimmten Metaboliten in dem untersuchten Gewebe bestimmt werden können. Der Begriff „Quantifizierung“ wird dabei oftmals für vier verschiedene Arbeitsschritte verwendet [56]:

- (1) Akquisition und Postprocessing.
- (2) Analyse der relativen Bestandteile eines Spektrums aus verschiedenen Metaboliten.
- (3) Normalisierung von RF-induzierten Unregelmäßigkeiten.
- (4) Kalibrierung zur Erhebung absoluter Konzentrationswerte.

Ein elementarer Schritt bei der Auswertung von in-vivo ^1H MR Spektren ist die Daten-Postprozessierung, welches von modernen MR-Scannern oftmals weitestgehend automatisch durchgeführt wird und den Zweck hat, die Qualität der Messdaten und damit der MR Spektren zu verbessern, bevor diese mithilfe eines Auswertungsprogramms ausgewertet werden, um relative oder absolute Konzentrationen bestimmter Metaboliten zu erheben. Wichtige Schritte sind hierbei [57]: „Eddy-Current-Correction (ECC)“, Wassersuppression, Signalfilterung in der Zeitdomäne, „Zero-Filling“, Phasenkorrektur und Basislinienkorrektur.

„Eddy-Current-Correction“ (ECC)

Aufgrund des An- und Abschaltens der verschiedensten Gradientenfelder im MR-Scanner werden durch elektromagnetische Induktion elektrische Ströme in den stromleitenden Bestandteilen des Scanners induziert, die wiederum zeitabhängig sich ändernde schwache magnetische Felder induzieren. Dies führt zu einem Phasenshift des freien Induktionszerfalls (FID) und damit zu Artefakten. Dieser Phasenshift kann behoben werden durch Akquirieren eines zweiten FID ohne Wassersuppression und der Subtraktion der Phase dieses FIDs von dem gemessenen FID mit Wassersuppression [56].

„Zero-Filling“

Die Umwandlung des analogen MR-Signals mittels Analog-zu-Digital-Converter in ein digitales Signal erfolgt von Punkt zu Punkt in der Frequenzdomäne. Der Abstand zwischen zwei Ablesepunkten wird determiniert durch die gewünschte Bandbreite und der Abstand der Datenpunkte in der Frequenzdomäne von der Gesamtlänge der Zeitdomäne. Durch Hinzufügen von weiteren Zeitpunkten ohne Wert kann so nachträglich der Abstand der Datenpunkte in der Frequenzdomäne verringert werden. Insbesondere bei scharfen „Peaks“ in einem Spektrum kann es so dazu kommen, dass das

Spektrum nicht korrekt digital dargestellt werden kann. Das „Zero-Filling“ ermöglicht eine Interpolation weiterer Datenpunkte im Spektrum.

Signalfilterung in der Zeitdomäne und Phasenkorrektur

Durch Anwendung von mathematisch angepassten Filtern und anderen rechnerischen Optionen an FID und Spektrum kann die Phase korrigiert werden und die SNR auf Kosten der Auflösung verbessert werden.

Basislinienkorrektur

Eine suffiziente Basislinienkorrektur ist häufig notwendig, um eine korrekte Messung der relativen oder absoluten Metabolitenkonzentrationen in einem in-vivo ^1H MR Spektrum des Gehirns sicherzustellen. Zwei Mechanismen führen in der Regel zu weiten Aufwölbungen im Spektrum: Zum einen kann es durch technische Ungenauigkeiten in Form von Verzögerungen zwischen RF-Puls-Applikation und Signalakquirierung zu einer Verfälschung der ersten Punkte im FID und damit zu breiten Hintergrundsignalen im Spektrum kommen. Dieser Mechanismus ist allerdings bei den heutigen, modernen Scannern zu vernachlässigen. Der wesentlich relevantere Grund für eine unregelmäßige Basislinie im MR-Spektrum des Gehirns ist die Anwesenheit von breiten Signalen von Makromolekülen und Lipiden mit einer sehr kleinen $T2^*$ -Zeit. Diese Art von Signalen spielt so nur bei Akquirierung mit kleinen Echozeiten eine Rolle. Die Eliminierung jener Signale nach der Akquisition wird als Basislinienkorrektur bezeichnet.

In dieser Arbeit wurde hierzu das Softwarepaket LCModel verwendet.

2.2 Rekrutierung der Patienten zur Quantifizierung von Laktat

Zur Bestimmung von Laktatkonzentrationen in MR-Spektren von Hirntumoren wurden retrospektiv MR-Tomographien und MR-Spektroskopien einer vorausgegangenen Studie der Diagnostischen und Interventionellen Neuroradiologie Tübingen zur Auswertung verwendet. Im Rahmen dieser Studie wurden 34 Patienten, die an einem Glioblastom, Astrozytom oder an einem Tumor mit mindestens einer, in der Magnetresonanztomographie erkennbaren, Hirnmetastase erkrankt waren, präoperativ mittels Magnetresonanztomographie und Magnetresonanzspektroskopie untersucht. Die Krankheitsmodalitäten der Patienten setzten sich zusammen aus 27 Glioblastomen, sechs

Astrozytomen und einem Harnblasenkarzinom. Grundvoraussetzung zur Teilnahme an der Studie waren neben der Tumorerkrankung eine selbstständige Einwilligungsfähigkeit und ein Alter zwischen 18 und 80 Jahren.

Die Studienteilnehmer wurden aus allen Patienten der Diagnostischen und Interventionellen Neuroradiologie der Universitätsklinik Tübingen, auf die die Einschluss- und Ausschlusskriterien zutrafen, durch direkte Anfragen rekrutiert. Sämtliche Studienteilnehmer wurden mindestens 30 Minuten vor den Untersuchungen schriftlich und mündlich über den Ablauf und die Risiken der Studienteilnahme informiert und gaben im Anschluss ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme und zum Datenschutz ab. Ein- und Ausschlusskriterien wurden von einem ärztlichen Mitarbeiter der Diagnostischen und Interventionellen Neuroradiologie der Universitätsklinik Tübingen geprüft.

Aus den 34 Tumorpatienten, die an dieser Studie teilgenommen hatten, wurden fünf Patienten anhand verschiedener Kriterien ausgewählt, um die spektroskopisch gemessenen Laktatkonzentrationen in deren Hirntumoren zu ermitteln. Abb. 3 zeigt den Auswahlprozess dieser Patienten.

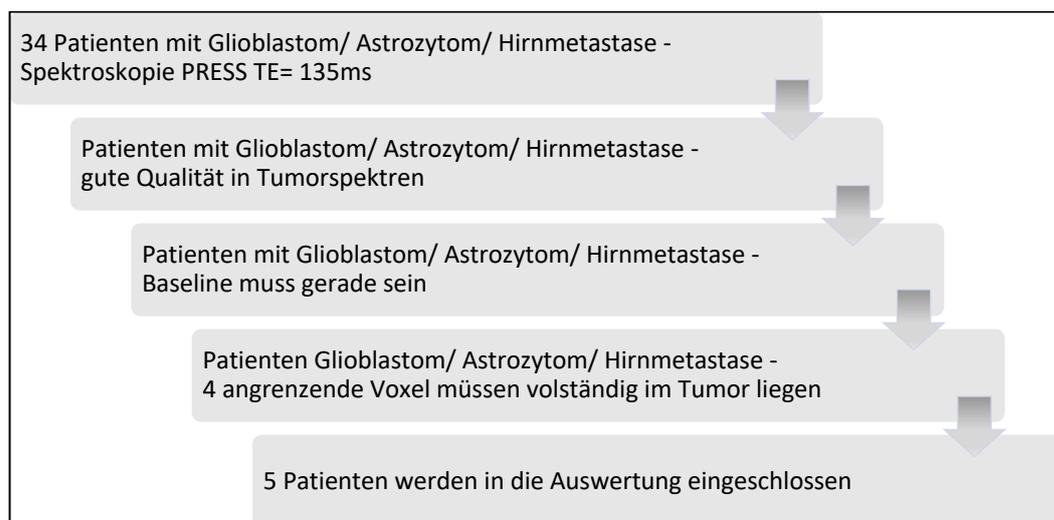


Abb. 3: Verlauf der Auswahl der ausgewerteten Patientenspektren

Grundvoraussetzung war, dass die Patienten mit der CSI-Sequenz PRESS bei einer Echozeit von 135ms untersucht worden waren.

In einem zweiten Schritt wurden die Patientenspektren im Hinblick auf die beiden Kriterien Signal-Rausch-Verhältnis (SNR) und gleichmäßige, ausgeglichene Basislinie sortiert. Patienten, deren Tumorspektren eine niedrige SNR aufwiesen oder deren Basislinie nicht gerade war, wurden von der Auswertung ausgeschlossen. Als letztes Kriterium wurde für die Auswertung vorausgesetzt, dass vier Voxel, auf die die anderen Kriterien zutrafen, aneinandergrenzend im Tumorgewebe positioniert waren. Schlussendlich blieben so fünf Patienten und somit zwanzig Tumorspektren, die mit Hilfe der Software LCModel im Hinblick auf die Quantifizierung von Laktat und Lipiden ausgewertet wurden.

2.3 Rekrutierung der Probanden zur Quantifizierung von Glutamat und Glutamin

Zur Quantifizierung der Metaboliten Glutamat, Glutamin und Kreatin im Hirn mittels Magnetresonanztomographie, wurden fünfzehn Probanden für die Studie rekrutiert. Einschlusskriterien in die Studie waren eine sowohl körperliche als auch psychische Gesundheit der Probanden, ein Alter zwischen 18 und 80 Jahren und eine selbstständige Einwilligungsfähigkeit.

Die Probanden wurden durch eine öffentliche Anfrage innerhalb der Universitätsklinik Tübingen und aus existierenden Listen interessierter Personen rekrutiert. Ein- und Ausschlusskriterien wurden von einem ärztlichen Mitarbeiter der Diagnostischen und Interventionellen Neuroradiologie der Universitätsklinik Tübingen geprüft. Eine Teilnahme an der Studie war zudem nur für Probanden möglich, die mit der Information über unerwartete morphologische, gegebenenfalls pathologische, Befunde einverstanden waren. Sämtliche Studienteilnehmer wurden mindestens 30 Minuten vor den Untersuchungen schriftlich und mündlich über den Ablauf und die Risiken der Studienteilnahme informiert und gaben im Anschluss ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme und zum Datenschutz ab. Die genannten Kriterien im Hinblick auf eine Studienteilnahme wurden von einem ärztlichen Mitarbeiter der Diagnostischen und Interventionellen Neuroradiologie, Universitätsklinik Tübingen überprüft.

Die Probandenanzahl von 15 Studienteilnehmern ergab sich aus Überlegungen zum Ablauf der Studie. Da keine statistischen Tests im Rahmen der Auswertung der Ergebnisse vorgesehen waren, war keine statistische Fallzahlplanung notwendig. Stattdessen wurde - von einer gewünschten Datenmenge von zehn bis zwölf Probanden ausgehend - mit Hinblick auf die erwartete Qualität und Durchführbarkeit der MR Spektroskopien auf die benötigte Probandenanzahl von 15 extrapoliert. Glutamat und Glutamin sind wichtige Stoffwechselprodukte im menschlichen Gehirn und waren daher bei jedem gesunden Probanden in messbarer Konzentration erwartbar. Dies galt für beide bei den Messungen benützten Lokalisationsmethoden, das heißt sowohl bei der PRESS-Sequenz als auch der Semi-LASER-Sequenz.

Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass Zufallsergebnisse bei einzelnen Messungen entstehen können und das Ergebnis der Messung in Einzelfällen Ungenauigkeit aufweisen kann, planten wir mit einer Fallzahl von 15 Probanden.

Studienpopulation

Die verschiedenen MRT und MRS Untersuchungen wurden an fünfzehn körperlich und psychisch gesunden Probanden durchgeführt, die den obig genannten Einschluss- und Ausschlusskriterien der Studie entsprachen. Fünf der Studienteilnehmer waren männlich und zehn weiblich. Das Durchschnittsalter der Probanden betrug zum Zeitpunkt der Studiendurchführung 29 Jahre. Der Medianwert lag bei 24 Jahren.

2.4 Datenerhebung / Messungen

2.4.1 Laktatquantifizierung

Alle Messungen, die im Rahmen der Studie durchgeführt wurden, waren schriftlich von dem Ethikkomitee der Eberhard-Karls-Universität Tübingen im Vorfeld genehmigt worden. Teile der MR-Daten dieser Studie wurden dann verwendet, um den Metaboliten Laktat im Gehirn der Patienten zu bestimmen.

34 Patienten, die an einem Glioblastom, Astrozytom oder einer Hirnmetastase eines hirn fremden Tumors erkrankt waren, wurden präoperativ mit Hilfe von MR-Tomographie und MR-Spektroskopie im Rahmen der Studie untersucht. Die Messungen wurden an dem MR-System TRIO TIM (Siemens, Erlangen) bei einer Feldstärke von 3T

durchgeführt. Die MRT erfolgte bei 123,24 Hz unter Verwendung einer 20-Kanal- Kopf- und Nackenspule. Die Positionierung des Patienten erfolgte in dergestalt, dass der Kopf innerhalb der Spule im Isozentrum der Scannermagneten positioniert war.

Wie oben beschrieben wurden anhand mehrerer Kriterien fünf Patienten ausgesucht, deren Datensätze ausgewertet wurden.

Bei vier dieser Patienten wurde als Übersichtsaufnahme, zur Orientierung und Ansicht der Spektroskopiematrix eine transversale T2 gewichtete Flair-MRT verwendet. Diese T2-Flair MRT wurde mit einer TR=9000ms und einer TE=92ms angewendet. Die TI betrug 2500ms, die Schichtdicke 4mm, der Flip-Winkel 150° und das „Spacing“ zwischen zwei Schichten maß 0,4mm. Die Zeitdauer einer solchen MRT-Messung betrug ca. 2min. Die Software Syngo von Siemens wurde verwendet, um die MRT-Dateien graphisch darzustellen und eine Auswahl der Patienten zu treffen.

Bei einem der fünf Patienten erfolgte keine Durchführung einer T2-Flair MRT. Deshalb wurde hier eine andere T2-gewichtete Messung als Ansicht-MRT verwendet. Diese war T2*-gewichtete und ebenfalls in transversaler Ausrichtung aufgenommen. Da die Aufnahmen, wie oben erläutert, lediglich zur Ansicht der Positionierung der Spektroskopiematrix in Bezug zum Hirntumor verwendet wurden, sodass eine Auswahl der Tumorspektren möglich war, war der Unterschied zwischen der T2*-gewichteten Aufnahme zu den T2-Flair MRTs im Hinblick auf das Ergebnis der Auswertung unerheblich. Die T2*-MRT wurde bei einer TE von 24,8ms und einer TR von 743ms durchgeführt. Die Schichtdicke betrug 5mm. Das „Spacing“ zwischen zwei Schichten war 1mm. Der Flip-Winkel betrug 20° .

Neben verschiedensten MRT-Untersuchungen wurde bei jedem Probanden eine MRS Messung unter Einsatz der CSI Sequenz PRESS bei einer Echozeit von 135ms durchgeführt. Diese MR-Spektren wurden im Rahmen dieses Teils der Dissertationsarbeit mit LCModel ausgewertet, um den Metaboliten Laktat in Hirntumoren zu bestimmen. Die Matrixgröße betrug jeweils 16 x 16 Voxel, die so positioniert waren, dass eine Schicht des Hirntumors jedes Patienten innerhalb des VOI lag, das 8 x 8 Voxel umfasste. Die TR betrug bei diesen MRS-Messungen 1600ms. Das FOV war 160mm x 160mm, womit das VOI entsprechend 80mm x 80mm betrug. Die

Spektroskopie erfolgte bei einer Schichtdicke von 15mm. Die Akquisition erfolgte mit einer Mittelung.

2.4.2 Glutamat- und Glutaminquantifizierung

Der Durchführung der MRT- und MRS-Messungen zur Quantifizierung von Glutamat und Glutamin im menschlichen Gehirn ging eine schriftliche Einwilligungsbestätigung des Ethikkomitees der Eberhard-Karls-Universität Tübingen voraus.

Die Magnetresonanztomographie wurde, wie oben beschrieben, an fünfzehn gesunden Probanden durchgeführt. Die MRT-Messungen gingen dabei jeweils bei jedem Probanden den eigentlichen MRS-Messungen voraus. Ziel dieser Untersuchungen war die Erstellung von Übersichtsaufnahmen des Schädels und des Gehirns der Probanden in sagittaler, frontaler und transversaler Ausrichtung. Anhand dieser Übersichtsbilder in drei Ebenen konnte im Anschluss die Position und Ausrichtung der zu spektroskopierenden Schicht im Gehirn des Probanden bestimmt werden.

Dazu wurde das 3 Tesla MR-System Skyra (Siemens, Erlangen) des Universitätsklinikums Tübingen eingesetzt. Die MRT erfolgte bei 123,24 Hz unter Verwendung einer 20-Kanal- Kopf- und Nackenspule, die auch im klinischen Alltag zur Anwendung kommt. Die verwendete Sequenz war eine Turbo-Spinecho- Sequenz mit TR=6000ms, TE=90ms, Flip- Winkel= 150°, Schichtdicke=3mm und einem „Spacing“ zwischen den Schichten von 0,9mm. So wurden einfache T2- gewichtete Aufnahmen in den drei Ausrichtungen erhoben. Die Zeitdauer einer solchen Messung betrug pro Proband 2min.

Um die MR-Aufnahmen unmittelbar nach der Akquisition optisch darstellen und bewerten zu können, wurde in dieser Studie die Betriebssoftware Syngo verwendet.

Im Anschluss an die MR-Tomographie wurde die MR-Spektroskopie durchgeführt. Ziel der MRS war die Aufnahme von qualitativ hochwertigen zweidimensionalen Spektren (CSI- Spektren) im Gehirn der Probanden um so eine Quantifizierung der Metaboliten Glutamat und Glutamin anhand dieser Spektren zu ermöglichen. Wie oben erklärt, wurde die zu spektroskopierende Schicht im Gehirn der Probanden anhand der erstellten Tomographien geplant. Diese lag bei jedem Probanden mittig im Großhirn knapp über

dem Corpus callosum. Dabei wurde die Schicht leicht gekippt parallel zum transversalen Achsenverlauf des Corpus callosum positioniert. Zur Spektroskopie wurden zwei verschiedene CSI Sequenzen verwendet. So wurde die PRESS-Sequenz, die auch im klinischen Alltag standardmäßig eingesetzt wird, mit der Sequenz Semi-LASER verglichen. Durch eine höhere Bandbreite, die zu einem verkleinerten chemischen Verschiebungs-Fehler (CSD) führt, waren von der Semi-LASER- Sequenz Vorteile gegenüber der PRESS- Sequenz hinsichtlich der Spektrenqualität erwartbar. Beide Sequenzen wurden angewendet mit fünf verschiedenen Echozeiten: $TE_{1-5} = 40\text{ms}, 60\text{ms}, 80\text{ms}, 100\text{ms}, 135\text{ms}$. Die TR betrug jeweils 1600ms mit $FOV = 160 \times 160\text{mm}^2$, Matrixgröße = 16×16 , Schichtdicke = 15mm und einem $VOI = 80 \times 80\text{mm}^2$. Jede Messung wurde hierbei unter Verwendung einer elliptischen Filtertechnik durchgeführt. Dies führte zu einer deutlichen Verbesserung der Spektrenqualität ohne die Dauer einer Messung stark zu verlängern. Die Zeitdauer einer Spektroskopie betrug so pro Sequenz und Echozeit 6,5min.

Des Weiteren wurden zur Verbesserung der Spektrenqualität sechs Sättigungsschichten um die eigentliche Spektroskopieschicht positioniert. Diese hatten zum Ziel, störende artifizielle Fettsignale, die vom Fett der Schädelkalotte herrühren, abzusättigen um so eine Überlagerung der Fettspektren mit den Spektren der eigentlich zu messenden Metaboliten zu vermeiden und eine gerade Basislinie zu ermöglichen. Dazu wurden jeweils zwei solche Sättigungsschichten in sagittaler, transversaler und koronarer Ausrichtung mit kleinem Abstand von ein bis zwei Zentimeter um die zu spektroskopierende Schicht angeordnet. Um die erhaltenen Spektren einem ersten Qualitätscheck zu unterziehen, wurden diese unmittelbar nach der Messung wiederum mittels der Betriebssoftware Syngo betrachtet.

2.5 Spektrale Analyse mit LCModel

2.5.1 Erstellen der LCModel-Basisdatensätze

Das Erstellen und die Berechnung der LCModel Basisdatensätze erfolgte mithilfe der Programme VeSPA-Simulation und LCModel. Basisdatensätze sind der elementare Teil einer jeden Spektrenanalyse unter Verwendung der Software LCModel, da hierin sämtliche Basisspektren der in der Auswertung eingeschlossenen Metaboliten abgelegt sind und so von dem Programm abgerufen werden können, um eine lineare Kombination

des zu analysierenden Spektrums aus diesen Basisspektren durchzuführen. Die Berechnung der Basisdatensätze erfolgte dabei in drei aufeinanderfolgenden Schritten. In einem ersten Schritt wurden die Parameter der in den Messungen verwendeten Sequenzen PRESS und SLASER im Programm VeSPA hinterlegt. Dies ermöglichte im zweiten Schritt die Simulation der Basisspektren der einzelnen Metaboliten mit der PRESS-Sequenz und der SLASER-Sequenz, jeweils in den Echozeiten 40ms, 60ms, 80ms, 100ms und 135ms. Im dritten Schritt wurden dann die einzelnen Basisspektren mit dem Tool „MakeBasis“ von LCMoel zu den entsprechenden Basisdatensätzen zusammengefügt.

MRS- Sequenzen PRESS und SLASER in VeSPA

Um die Basisdatensätze zur Analyse der MR- Spektren berechnen zu können, war es im ersten Schritt nötig, die Codes der beiden verwendeten Sequenzen PRESS und SLASER in der Software VeSPA-Simulations abzuspeichern. VeSPA-Simulations ist eine Open-Source-Software mit der es möglich ist, die Basisspektren einzelner Metaboliten separat zu berechnen und simulieren. Abb. 4 zeigt die Sequenzcodes der beiden MRS-Sequenzen PRESS und SLASER in Form zweier Sequenzdiagramme.

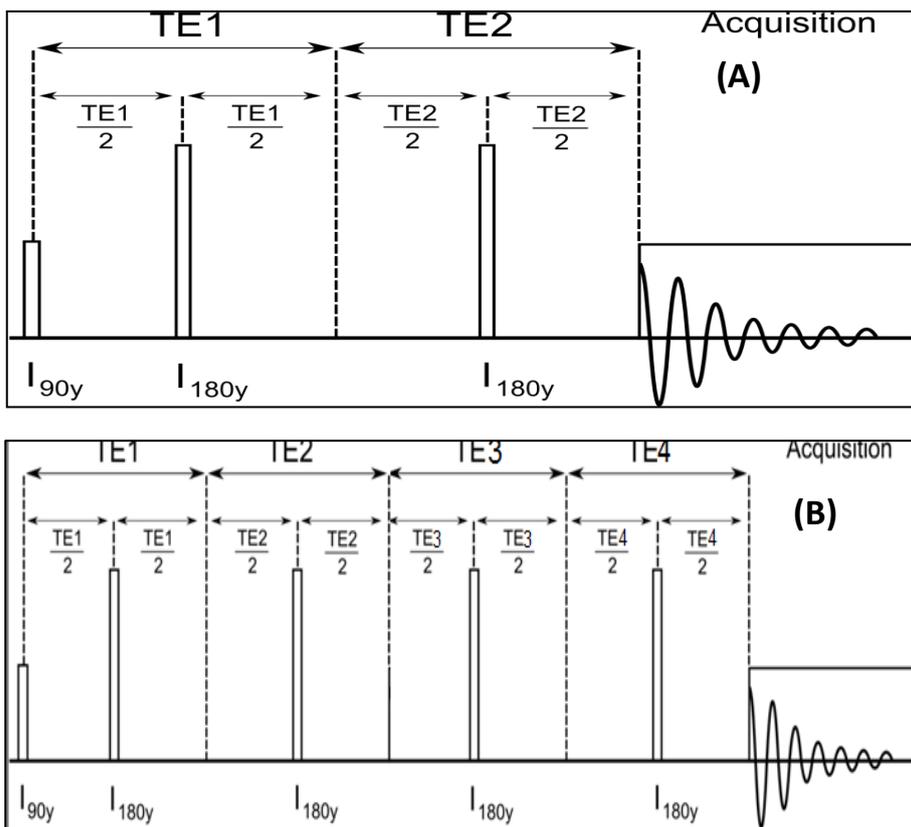


Abb. 4: Ideale Sequenzdiagramme der MRS-Sequenzen PRESS (A) und SLASER (B). Aus VeSPA-Simulations-Manual [1].

Die von Siemens bereitgestellte und in beiden Projektteilen verwendete PRESS-Sequenz bildet sich hierbei aus einem initialen 90° RF-Puls, auf den anschließend zwei 180° RF-Pulse folgen. Nach einem weiteren Zeitabstand folgt dann die Akquisition. Die Gesamtechozeit TE_{ges} wird hierbei aus den beiden Einzelechozeiten TE_1 und TE_2 zusammengesetzt. Diese Teilung der Echozeit ist meistens nicht symmetrisch, da TE_1 stets den konstanten Wert 15,2 ms beträgt, während TE_2 sich aus der Differenz von TE_{ges} und TE_1 ergibt.

Die Sequenz SLASER wurde nur im Projektteil „Quantifizierung von Glutamat und Glutamin“ verwendet. Sie ist eine Weiterentwicklung der Standard-PRESS-Sequenz und arbeitet mit adiabatischen RF-Pulsen. Auf den initialen 90° RF-Puls folgen vier adiabatische 180° RF-Pulse. Im Anschluss erfolgt dann wiederum die Akquisition. Die Gesamtechozeit setzt sich auch hier aus vier Einzelechozeiten zusammen: $TE_{ges} = TE_1 + TE_2 + TE_3 + TE_4$. Wie bei der PRESS Sequenz ist auch in diesem Fall nur die letzte Echozeit TE_4 variabel und ergibt sich aus der Differenz zwischen der Gesamtechozeit und Summe der Echozeiten TE_{1-3} . TE_{1-3} haben jeweils immer den gleichen Wert.

Wie in Abb. 4 dargestellt, wurden zur Simulation der Basisspektren in VeSPA bei beiden Sequenzen ideale RF-Pulse angenommen. Diese Maßnahme verkürzt die Rechenzeit zur Simulation der Basisspektren der einzelnen Metaboliten um ein Vielfaches, während die erwartbaren Abweichungen zur Simulation mit realistischen Pulsen nur klein sind.

Diese Sequenzcodes der PRESS Sequenz und der SLASER Sequenz wurden mithilfe von Quellcodes im Programm hinterlegt.

Simulation der Basisspektren

Im zweiten Schritt der Erstellung der Basisdatensätze wurden die Basisspektren der einzelnen im Basisdatensatz zu verwendenden Metaboliten simuliert. Dazu wurden die gespeicherten Sequenzcodes der PRESS-Sequenz und der SLASER-Sequenz verwendet. Es wurden die Basisspektren von 44 Metaboliten bei den Echozeiten 40ms, 60ms, 80ms, 100ms und 135ms und beiden Sequenzen (PRESS und SLASER) simuliert. Die Parameter der einzelnen Metaboliten, die dazu nötig waren, waren die „Peakanzahl“ und „Peakposition“ in ppm sowie die Kopplungsparameter. Diese Parameter wurden aus der

Arbeit „Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites“ von Govindaraju V. et al. [4] entnommen sowie von einer spektralen Webdatenbank für organische Stoffe [58].

Für folgende 44 Metaboliten wurden die Basisspektren simuliert:

L-Alanin, Aspartat, Kreatin, Phosphokreatin, Gamma-Amino-Buttersäure, Glukose, Glutamat, Glutamin, Glutathion, Glycerophosphocholin, Phosphocholin, myo-Inositol, L-Laktat, N-Acetylaspartat, N-Acetylaspartylglutamat, scyllo-Inositol, Taurin, 2-Hydroxyglutarat, 5-Aminolevulinsäure, Acetat, Arginin, Ascorbat, Citrat, Cystein, Dopamin, Ethanol, Ethanolamin, Glycerol, Glycin, Histamin, Histidin, Homocarnosin, Homocystein, Homovanillinsäure, Melatonin, Methionin, Phosphorylethanolamin, Phenylalanin, Pyruvat, Serin, Succinat, Threonin, Tryptophan und Tyrosin.

Berechnung der Basisdatensätze

Im Anschluss an die Simulation der Basisspektren der 44 einzelnen Metaboliten wurden dann in einem weiteren Schritt die Basisdatensätze aus diesen Basisspektren berechnet. Die Berechnung erfolgte mithilfe von LCMModel, welches die Funktion „MakeBasis“ enthält, mit der Basisdatensätze zur Analyse von Spektren erstellt werden können.

Für den Projektteil „Quantifizierung von Laktat“ wurden zwei verschiedene Basisdatensätze für die PRESS-Sequenz bei der Echozeit 135ms erstellt. Der LCMModel-Standardbasisdatensatz, der 17 Metaboliten enthält, wurde verglichen mit einem Basisdatensatz, der alle 44 oben genannten Metaboliten einschließt. Die 17 in diesem Standardbasisdatensatz enthaltenen Metaboliten sind: L-Alanin, Aspartat, Kreatin, Phosphokreatin, γ -Amino-Buttersäure, Glukose, Glutamat, Glutamin, Glutathion, Glycerophosphocholin, Phosphocholin, Myo-Inositol, L-Laktat, N-Acetylaspartat, N-Acetylaspartylglutamat, Scyllo-Inositol und Taurin.

Für den Projektteil „Quantifizierung von Glutamat und Glutamin“ wurden für die beiden Sequenzen PRESS und Semi-LASER je drei verschiedene Basisdatensätze für jede Echozeit $TE_{1-5}=40ms, 60ms, 80ms, 100ms$ und $135ms$ zur Auswertung der gemessenen Spektren erstellt. Diese drei verschiedenen Basisdatensätze werden im Folgenden als Basisdatensatz A, B und C bezeichnet.

Basisdatensatz A enthielt die 17 Standardmetaboliten L-Alanin, Aspartat, Kreatin, Phosphokreatin, γ -Amino-Buttersäure, Glukose, Glutamat, Glutamin, Glutathion, Glycerophosphocholin, Phosphocholin, Myo-Inositol, L-Laktat, N-Acetylaspartat, N-Acetylaspartylglutamat, Scyllo-Inositol und Taurin in selber Gewichtung wie von S.W. Provencher in [44] vorgeschlagen.

Basisdatensatz B beinhaltete 16 Metaboliten. Diese entsprachen den Metaboliten von Basisdatensatz A, allerdings ist Glutamin von der Auswertung ausgeschlossen.

Basisdatensatz C enthielt ebenfalls die 17 Metaboliten wie A. Allerdings waren Glutamat und Glutamin in der Gewichtung 70% Glu zu 30% Gln [4] zu einem Metaboliten Glx zusammengefasst.

Grundlage einer jeden Berechnung und Erstellung eines Basisdatensatzes mit LCModel ist die Inputdatei „makebasis.in“ [44]. In diesem wird festgelegt, welche Metaboliten, bzw. deren Basisspektren, verwendet werden sollen.

Unter Verwendung dieser makebasis.in Datei kann dann mithilfe der Funktion „MakeBasis“ von LCModel ein Basisdatensatz, bestehend aus den Basisspektren der einzelnen Metaboliten berechnet werden. Dieser Basisdatensatz kann im Rahmen einer Spektralanalyse mit LCModel zur Auswertung ausgewählt werden.

2.5.2 Erstellen des LCModel-Controlfiles

Das LCModel „Controlfile“ ist ein Skript, welches die Rahmenbedingungen der Spektralanalyse mit LCModel festlegt [44]. Mithilfe des „Controlfiles“ können so wichtige Auswertungseinstellungen determiniert werden. Die Festlegung geeigneter Angaben im „Controlfile“ und das Erstellen eines passenden „Controlfiles“ für die entsprechende Auswertung ist elementar für eine erfolgreiche Analyse von MR-Spektren mittels LCModel.

Zudem werden sämtliche Lipid- und Makromolekülspektren im Controlfile niedergeschrieben und dadurch bei der Spektralanalyse benutzt um gemessene Signale anzupassen.

Erstellung des Controlfiles für den Projektteil „Quantifizierung von Laktat“

Bei der Auswertung der MR-Spektren zur Quantifizierung von Laktat in Hirntumoren mittels LCModel wurden zwei verschiedene Controlfiles verwendet. Das „Standardcontrolfile“ von LCModel [44] wurde verglichen mit einem modifizierten, im Hinblick auf Laktatquantifizierung optimierten Controlfile.

Die beiden verglichenen „Controlfiles“ unterscheiden sich einzig in den Lipid- und Makromolekülsignalen, welche benutzt wurden um die gemessenen Spektren in hinreichender Qualität anzupassen.

Im „Standard-Controlfile“ wurden die Lipid- und Makromolekülsignale verwendet, die von S. Provencher im LCModel Manual von November 2016 [44] als hinreichend zur Anpassung von Hirnspektren vorgeschlagen wurden. Dabei wurden vier Lipidsignale bei ca. 1,3ppm, ein Signal bei 0,9ppm und ein Signal bei 2,0ppm vorgeschlagen. Die vier Lipidsignale bei 1,3ppm unterschieden sich etwas in ihren Signalpositionen, die zwischen 1,26ppm und 1,30ppm liegen sowie in ihren Halbwertsbreiten.

Das modifizierte „Controlfile“ wurde dahingehend verändert, dass sämtliche sechs Lipidsignale durch ein einziges neu eingeführtes Lipidsignal bei 1,29ppm ersetzt wurden. Grundlage dieser Maßnahme ist die Annahme, dass dieses eine Signal für die gemessenen Spektren ausreichend ist, um die Lipidspektren anzupassen. Da das Hauptsignal des zu quantifizierenden Laktats bei 1,31ppm liegt, ist es so gegebenenfalls möglich, die Qualität der Auswertung zu verbessern.

Die Makromolekülsignale bei 0,9ppm, 1,2ppm, 1,4ppm, 1,7ppm und 2,0ppm, die dem LCModel-Standard entsprechen, wurden im modifizierten Controlfile gegenüber dem Standard-Controlfile nicht verändert.

Durch den Einsatz des „Controlfiles“ ergibt sich ebenfalls die Möglichkeit, bestimmte im Basisdatensatz enthaltene Metaboliten wieder aus der Auswertung im Rahmen der Spektrenanalyse auszuschließen. Von dieser Funktion wurde im modifizierten „Controlfile“ dahingehend Gebrauch gemacht, dass zehn Metaboliten wieder ausgeschlossen wurden. Grundlage dieser Maßnahme war die Überlegung, dass diese Metaboliten nicht oder nur in irrelevant kleiner Konzentration im Gehirn und in Hirntumoren vorkommen. Dadurch wurde bei der Auswertung vermieden, dass die

Basisspektren dieser Metaboliten fälschlicherweise von LCModel berücksichtigt wurden bei der linearen Kombination aller Basisspektren zur Anpassung des gemessenen Spektrums. Folgende zehn Metaboliten wurden von der Auswertung ausgeschlossen: Dopamin, Ascorbat, Ethanol, Tryptophan, Tyrosin, Threonin, Succinat, Phosphatidylethanolamin, Phenylalanin und Pyruvat.

Erstellung des „Controlfiles“ für den Projektteil „Quantifizierung von Glutamat und Glutamin“

Bei der Auswertung der Probandenspektren zur Quantifizierung von Glutamat und Glutamin lag der Schwerpunkt auf dem Vergleich zweier Sequenzen und verschiedener Basisdatensätze. Daher wurde für jede Analyse mit LCModel dasselbe „Controlfile“ verwendet. Dieses Controlfile entspricht dabei nahezu vollständig dem Standard-Controlfile von LCModel, vorgeschlagen im LCModel Manual.

2.5.3 Bestimmung der Laktatkonzentrationen in Hirntumoren

34 Patienten, die an einem Hirntumor oder an einem Tumor mit Hirnmetastase erkrankt waren, wurden spektroskopisch mit einer CSI-PRESS-Sequenz untersucht. Aus den 34 Patienten wurden anhand in 2.2 aufgeführter Kriterien fünf ausgewählt. Von jedem dieser fünf Patienten wurden vier im Tumor liegende Spektren mithilfe von LCModel ausgewertet.

Die 20 Tumorspektren wurden hierbei mit drei verschiedenen Auswertungseinstellungen A-C analysiert. Tab. 1 stellt dar, welches „Controlfile“ und welcher Basisdatensatz dazu jeweils verwendet wurde.

Tab. 1: LCModel Auswertungseinstellungen A - C zur Quantifizierung von Laktat.

	Basisdatensatz	Controlfile
Einst. A	LCModel Standardbasisdatensatz 17 Metaboliten	LCModel Standardcontrolfile Alle Lipide und Makromoleküle enthalten
Einst. B	Modifizierter Basisdatensatz 42 Metaboliten	LCModel Standardcontrolfile 10 Metaboliten ausgeschlossen Alle Lipide und Makromoleküle enthalten
Einst. C	Modifizierter Basisdatensatz 42 Metaboliten	Modifiziertes Controlfile 10 Metaboliten ausgeschlossen Lipide ersetzt durch Lip13 Makromoleküle enthalten

Die je vier Tumorvoxel der fünf Patienten wurden mithilfe LCModel und der Einstellungen A bis C analysiert. Die Konzentrationswerte und Cramér-Rao Werte in %SD der Metaboliten Laktat, totalem Cholin (GPC + PCh), totalem N-Acetylaspartat (NAA + NAAG) und totalem Kreatin (Cr + PCr) wurden dabei erhoben.

Als Qualitätsgrenze für die Auswertung der Spektren wurde der Wert ≤ 20 %SD etabliert. Lag der Cramér-Rao Wert bei der Anpassung eines Basisspektrums durch LCModel über diesem Wert, wurde das Spektrum komplett aus der Auswertung ausgeschlossen.

2.5.4 Bestimmung der Glutamat- und Glutaminkonzentrationen im menschlichen Gehirn

Das Gehirn von 15 gesunden Probanden wurde via MRT und MRS untersucht. Dabei wurden die beiden Multivoxel-Sequenzen PRESS und Semi-LASER miteinander verglichen. Die Messungen erfolgten jeweils bei den Echozeiten 40ms, 60ms, 80ms, 100ms und 135ms. Somit wurden pro Proband zehn Datensätze mit je 256 Spektren erzeugt. Die inneren 8x8, d.h. 64 Spektren jeder CSI-Matrix wurden dann für die Analyse mittels LCModel berücksichtigt. Von insgesamt 15 Probanden wurden die Messungen an zweien dazu benötigt, die angewandte Messmethode zu etablieren. Die Messdaten dreier weiterer Probanden konnten aufgrund von Bewegungsartefakten oder anderer Störungen in den Spektren ebenfalls nicht zur Auswertung verwendet werden. So konnten schlussendlich die Datensätze von zehn Probanden zur Auswertung mittels LCModel und anderer Anwendungen verwendet werden.

In einem ersten Schritt erfolgte eine Qualitätskontrolle dieser zu auswertenden Spektren. War das Signal-Rausch-Verhältnis sehr klein, dann wurden diese einzelnen Spektren von der Auswertung ausgeschlossen.

Im zweiten Schritt wurden alle restlichen Spektren auf die Frequenz des NAA Singlets bei 2,01ppm referenziert. Dies ermöglichte im dritten Schritt die Mittelung der inneren 64 Spektren jedes CSI Datensatzes zu einem einzigen Spektrum. Dieser Schritt führte zu einer sehr starken Verbesserung der Qualität dieser Spektren. Insbesondere das SNR konnte jeweils stark vergrößert werden

Nach Ausschluss der Spektren mit niedriger SNR und Mittelung der inneren 64 Voxel jeder Matrix wurden so pro Proband zehn qualitativ hochwertige Spektren mit einem großen Signal-Rausch-Verhältnis erzeugt.

Diese wurden dann mithilfe von LCMoDel ausgewertet. Dazu wurden die drei Basisdatensätze A, B und C eingesetzt, die in Abschnitt 2.5.1 eingeführt werden. Die absoluten Konzentrationswerte und die Cramér-Rao Werte von totalem Kreatin (Cr+PCr), Glutamat und Glutamin wurden erhoben. Abb. 5 zeigt zusammenfassend die Arbeitsschritte, die im Rahmen dieser Auswertung getätigt wurden.

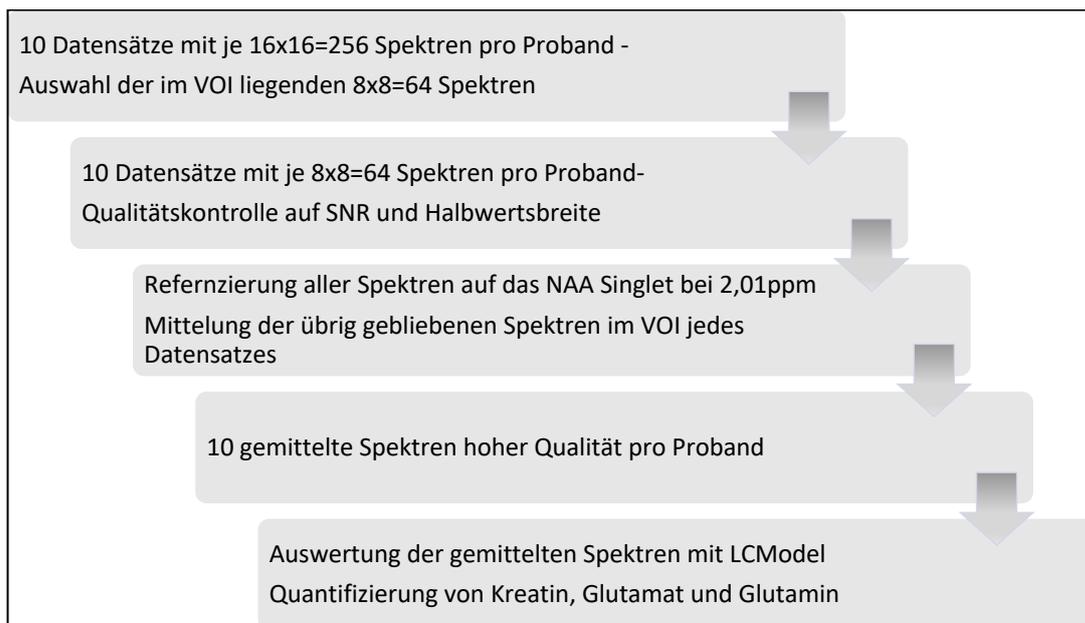


Abb. 5: Arbeitsschritte der Auswertung der Spektren zur Quantifizierung von Glutamat und Glutamin.

3 Ergebnisse

3.1 Datenerhebungen/ Messungen

3.1.1 Laktatquantifizierung

Die MR-Tomographien und MR-Spektroskopien von 34 Patienten, die an einer malignen Erkrankung des Hirns oder einer Tumorerkrankung mit Hirnbeteiligung erkrankt waren, wurden untersucht.

Im Rahmen der Studie wurden sowohl magnetresonanztomographische als auch magnetresonanzspektroskopische Aufnahmen und Untersuchungen angefertigt. Die in dieser Arbeit vorgestellte Quantifizierung von Laktat in Tumorspektren wurde retrospektiv durchgeführt.

Magnetresonanztomographie

In Abb. 6 sind die T2 gewichteten Übersichtstomographien in transversaler Ausrichtung aller fünf in die Auswertung eingeschlossenen Patienten dargestellt. Es wird jeweils eine Schicht gezeigt, die den spektroskopierten Hirntumor anschneidet.

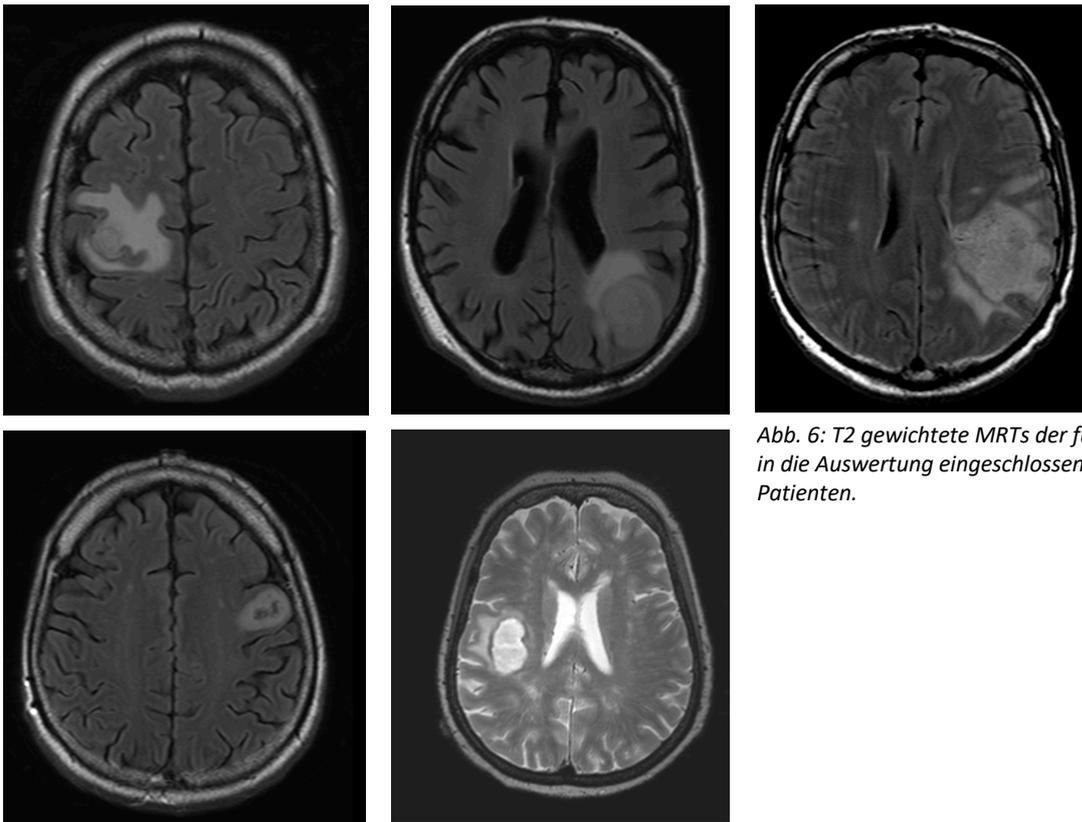


Abb. 6: T2 gewichtete MRTs der fünf in die Auswertung eingeschlossenen Patienten.

Magnetresonanzspektroskopie

Im Anschluss an die MRT-Aufnahmen, wurde bei jedem Patienten ebenfalls eine magnetresonanzspektroskopische Messung durchgeführt. Diese Messung wurde im Rahmen dieser Arbeit verwendet, um den Metaboliten Laktat in Hirntumoren mithilfe von LCModel zu quantifizieren.

Abb. 7 bis 11 zeigen beispielhaft je ein erhaltenes MR-Tumorspektrum der fünf in die Auswertung eingeschlossenen Patienten. Von jedem Probanden wurden vier solcher Tumorspektren ausgewertet.

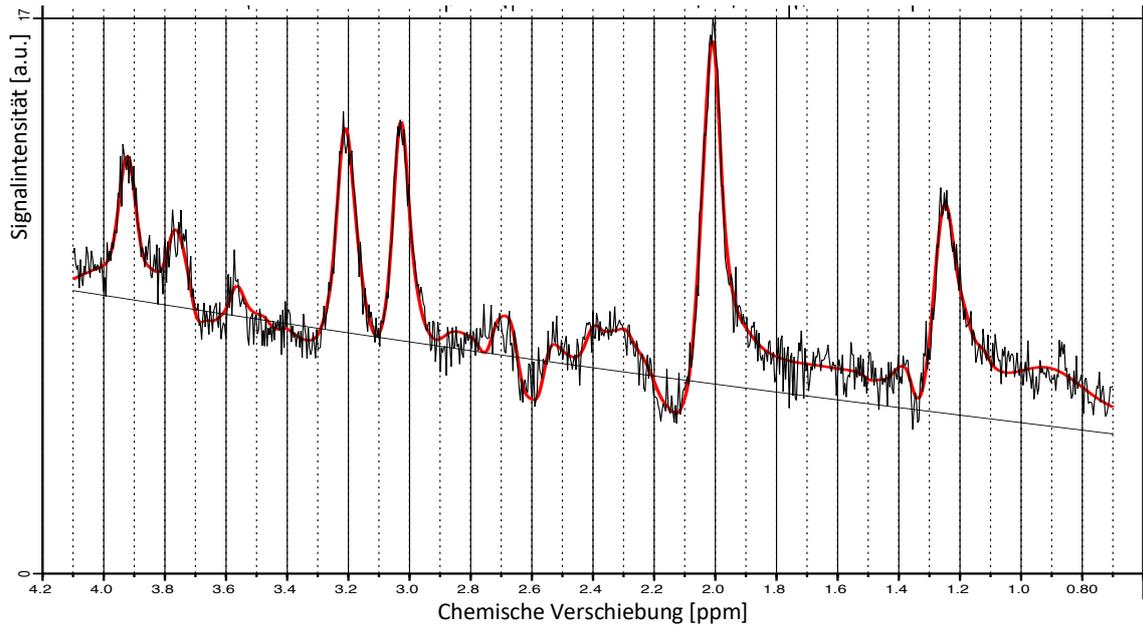


Abb. 7: Spektrum eines Voxels aus Tumorgewebe eines Patienten. Spektrum und Basislinie schwarz, Anpassung durch LCMoDel rot.

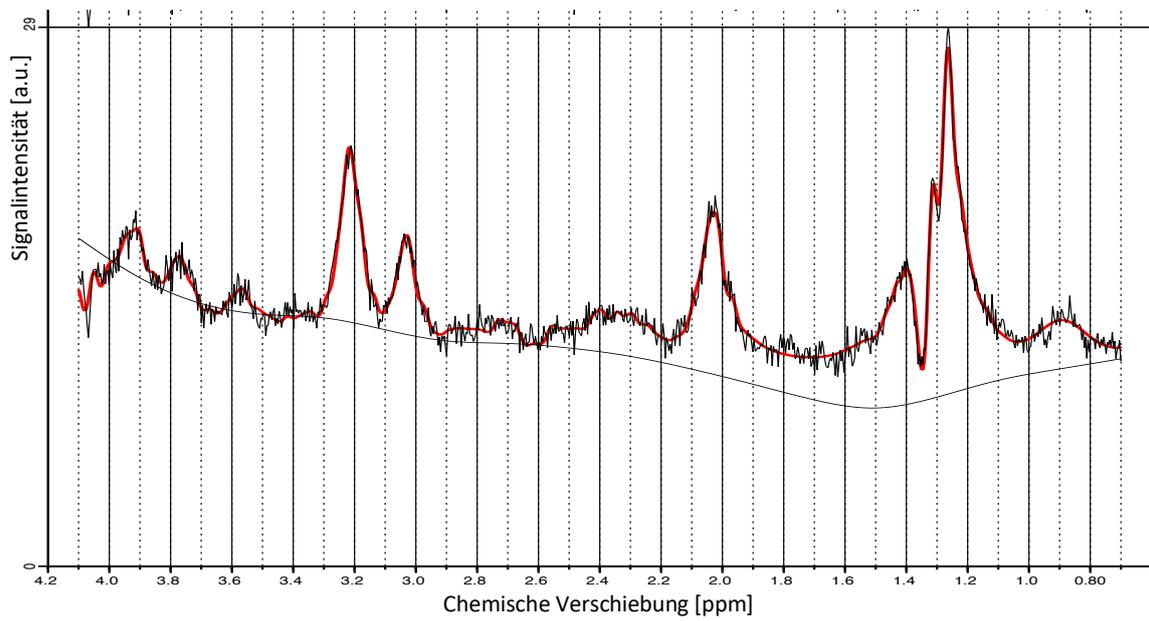


Abb. 8: Spektrum eines Voxels aus Tumorgewebe eines Patienten. Spektrum und Basislinie schwarz, Anpassung durch LCMoDel rot.

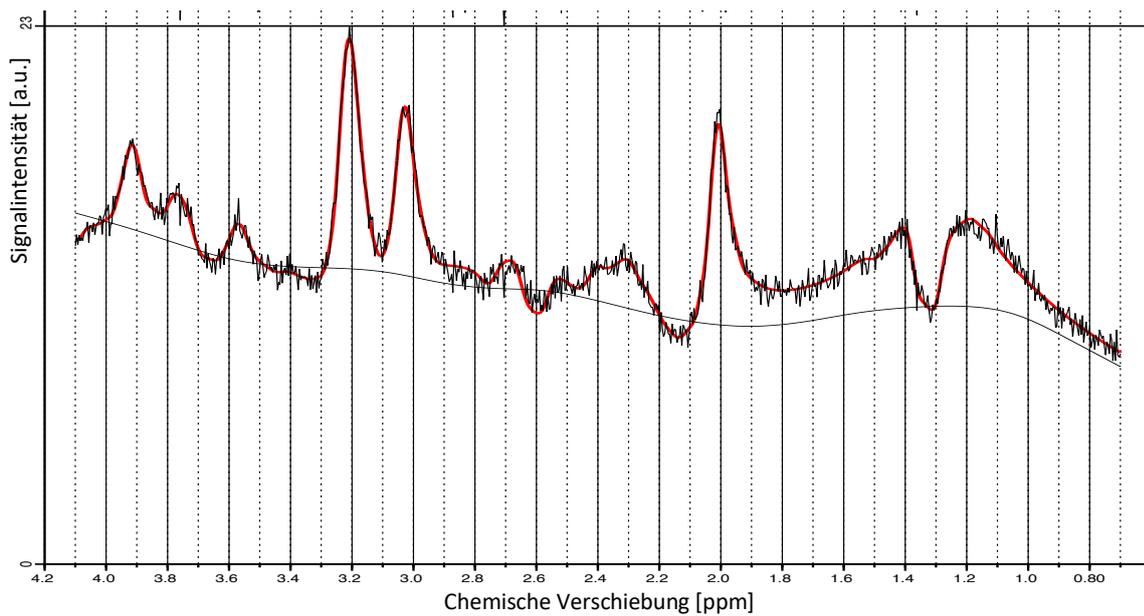


Abb. 9: Spektrum eines Voxels aus Tumorgewebe eines Patienten. Spektrum und Basislinie schwarz, Anpassung durch LCMModel rot.

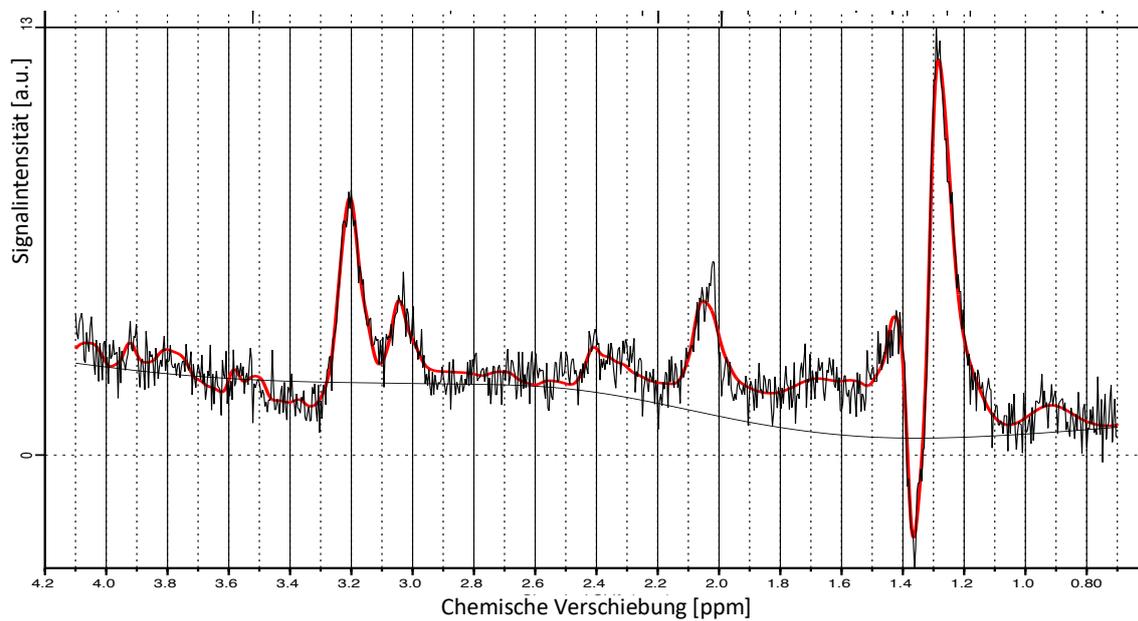


Abb. 10: Spektrum eines Voxels aus Tumorgewebe eines Patienten. Spektrum und Basislinie schwarz, Anpassung durch LCMModel rot.

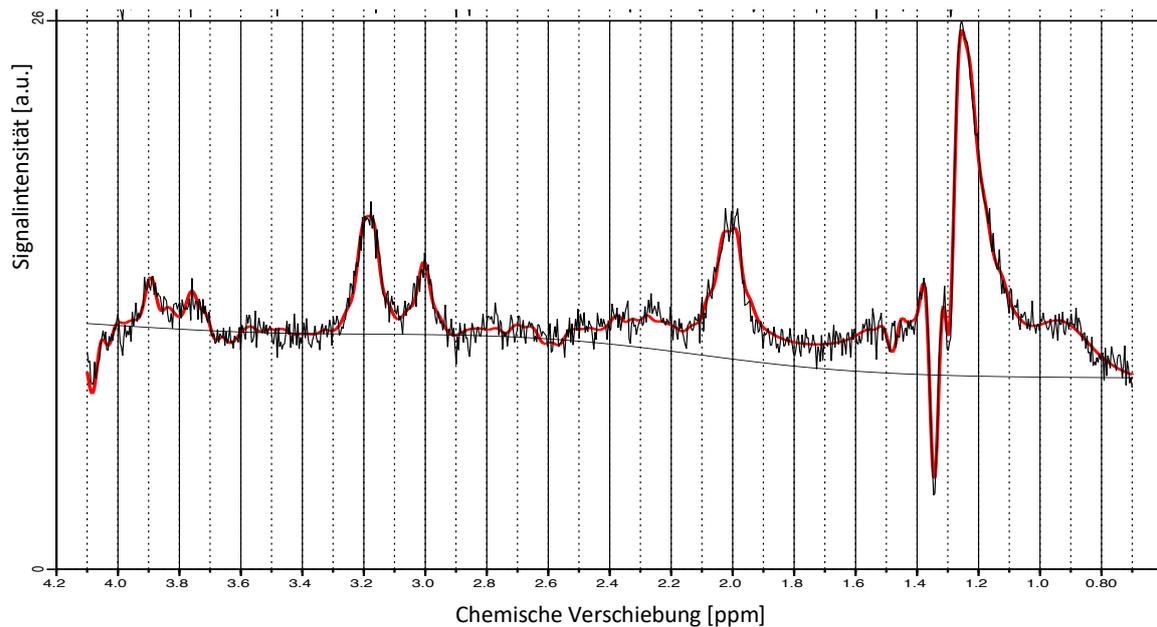


Abb. 11: Spektrum eines Voxels aus Tumorgewebe eines Patienten. Spektrum und Basislinie schwarz, Anpassung durch LCMModel rot.

3.1.2 Quantifizierung von Glutamat und Glutamin

In diesem Projektteil wurden fünfzehn Probanden mittels verschiedenen Magnetresonanzbildgebungsverfahren untersucht. Diese Messungen beinhalteten sowohl MR-Tomographien, die als Übersichtsaufnahmen dienten, als auch MR-Spektroskopien. Die Datensätze von zehn Probanden wurden ausgewertet. Die Daten der fünf restlichen Probanden wurden zur Methodenetablierung genutzt oder waren für die Auswertung nicht verwendbar.

Magnetresonanztomographie

Die T2 gewichteten MR-Tomographien erfolgten wie unter 2.4.2 erläutert. Abb.12 zeigt am Beispiel eines Patienten ein MRT-Bild in jeder Richtung.

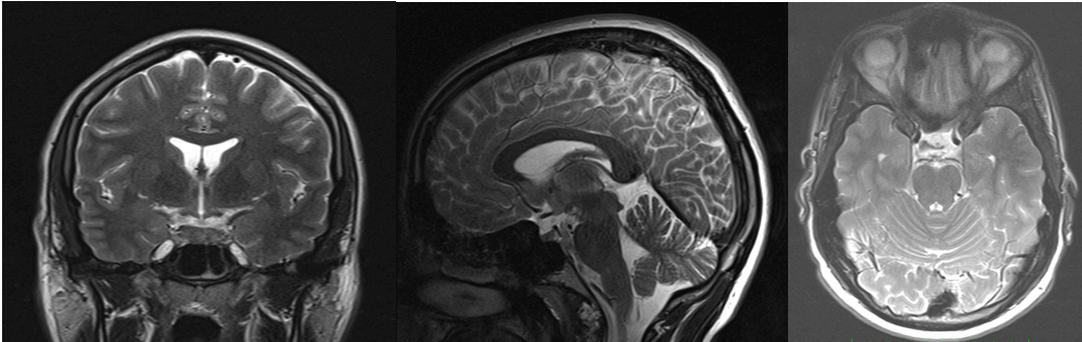


Abb. 12: T2 gewichtete MRT-Aufnahmen in drei Ebenen am Beispiel eines Probanden.

Kern der Messungen in diesem Projektteil stellen die MR-Spektroskopien dar. Das methodische Vorgehen erfolgte wie in 2.4.2 beschrieben. Abb. 13 zeigt diese Positionierung der Spektroskopie-Matrix.

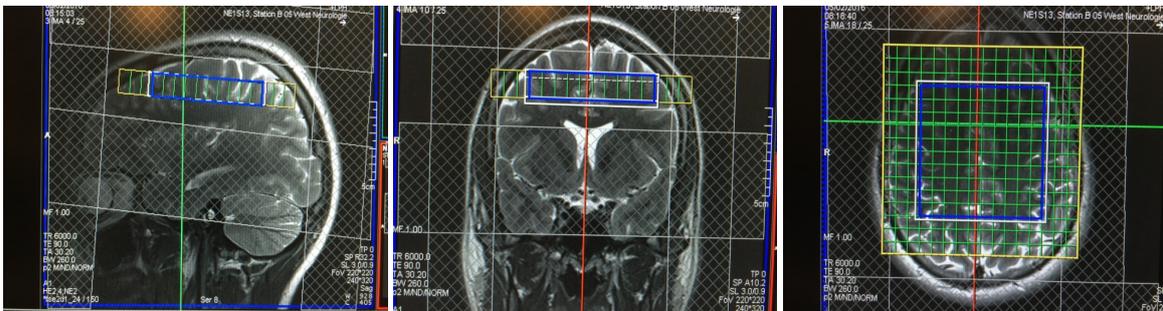


Abb. 13: Positionierung der MR-Spektroskopie in drei Ebenen.

Das VOI dieser Matrices bestand jeweils ebenfalls aus $8 \times 8 \times 1$ Voxel im Zentrum. Das VOI dicht umgrenzend, wurden sechs Sättigungsschichten positioniert, die dazu nötig waren, um die Fettsignale der Schädelkalotte aus jeder Richtung abzusättigen.

Abb. 14 zeigt exemplarisch zwei Spektren. Obig ein Einzelspektrum wie es direkt gemessen wurde, unten ein aus 64 Spektren gemitteltes Spektrum.

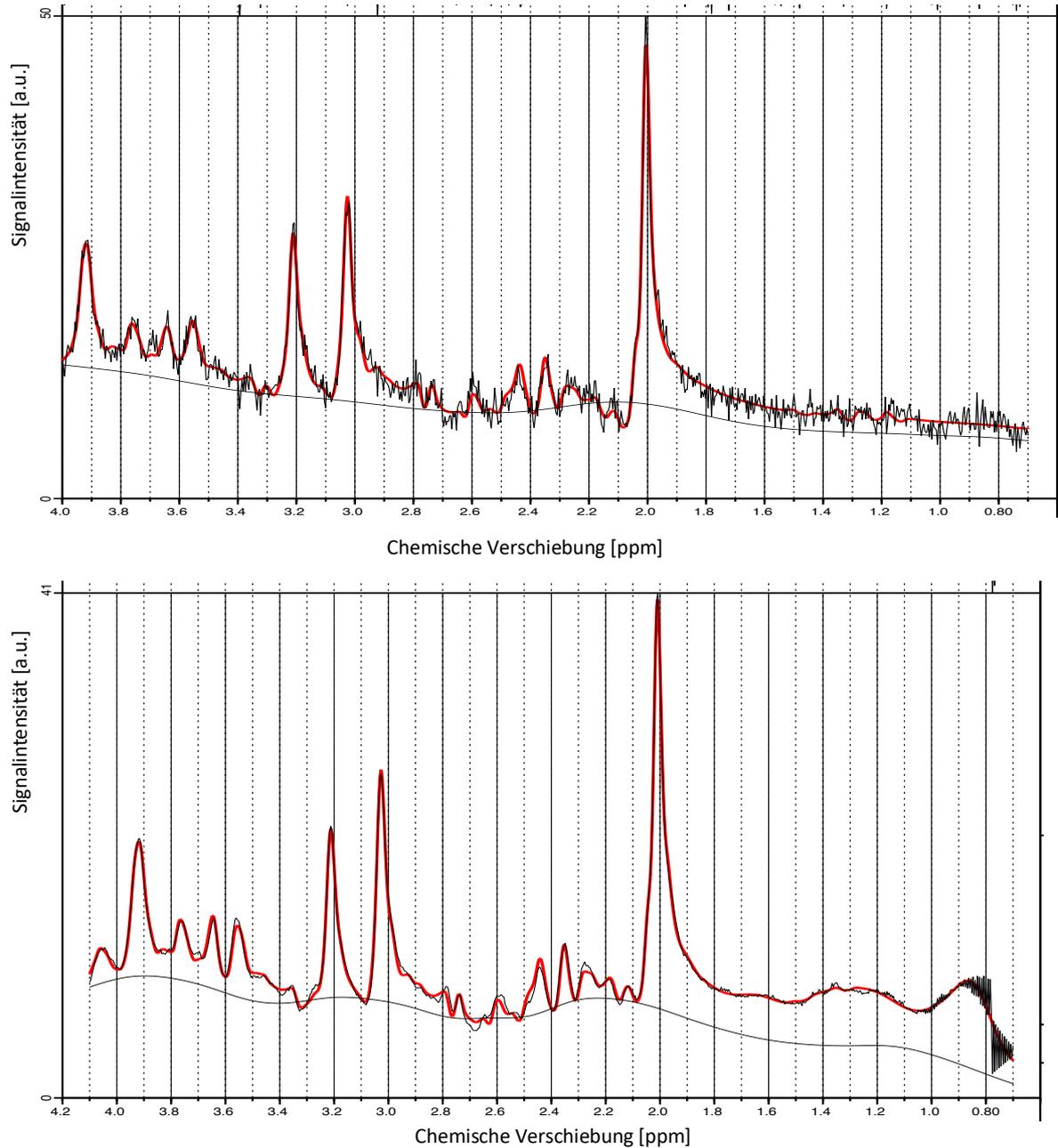


Abb. 14: Oben: Gemessenes Spektrum im Großhirn eines gesunden Probanden. Spektrum grau, LCMoDel-Fit rot.

Unten: Aus 64 Einzelspektren gemitteltes Spektrum im Großhirn eines gesunden Probanden. Spektrum grau, LCMoDel-Fit rot.

In Abb. 15 werden beispielhaft zwei gemittelte Spektren bei der Echozeit 135ms, die jeweils in der gleichen Hirnregion erstellt wurden, dargestellt. Beide Spektren stammen vom selben Probanden. Das obere Spektrum wurde mit Hilfe der PRESS-Sequenz aufgenommen. Zur Erstellung des unteren Spektrums wurde die SLASER-Sequenz verwendet.

Hervorzuheben ist die sehr gute Qualität, das heißt die hohe SNR, dieser gemittelten Spektren. Die qualitativ hochwertigen Spektren ermöglichen eine suffiziente und genaue Quantifizierung mittels LCMoel. Des weiteren kann anhand dieser gemittelten Spektren der Unterschied der mittels PRESS-Sequenz akquirierten Spektren zu denen die mit der SLASER-Sequenz akquiriert wurden deutlich erkannt werden.

Resonanzen zwischen 2,0 ppm und 3,0 ppm sind deutlich abgrenzbar und sprechen so insbesondere für ein Vorkommen von Glutamat- und Glutaminsignalen im MR-Spektrum.

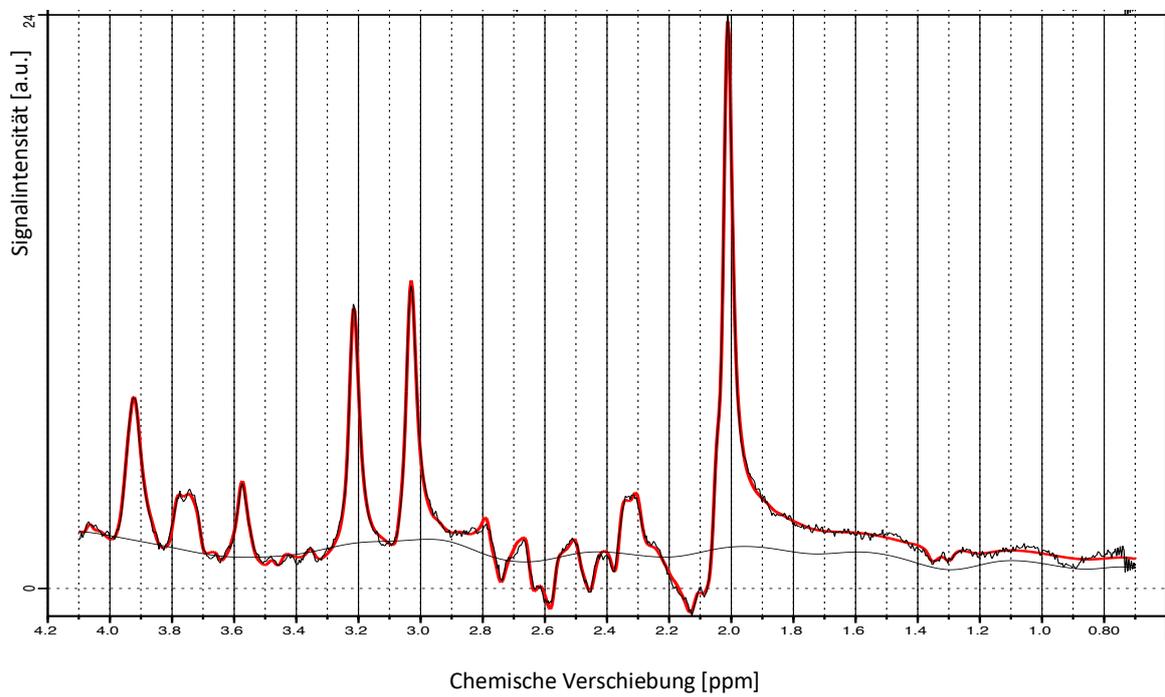
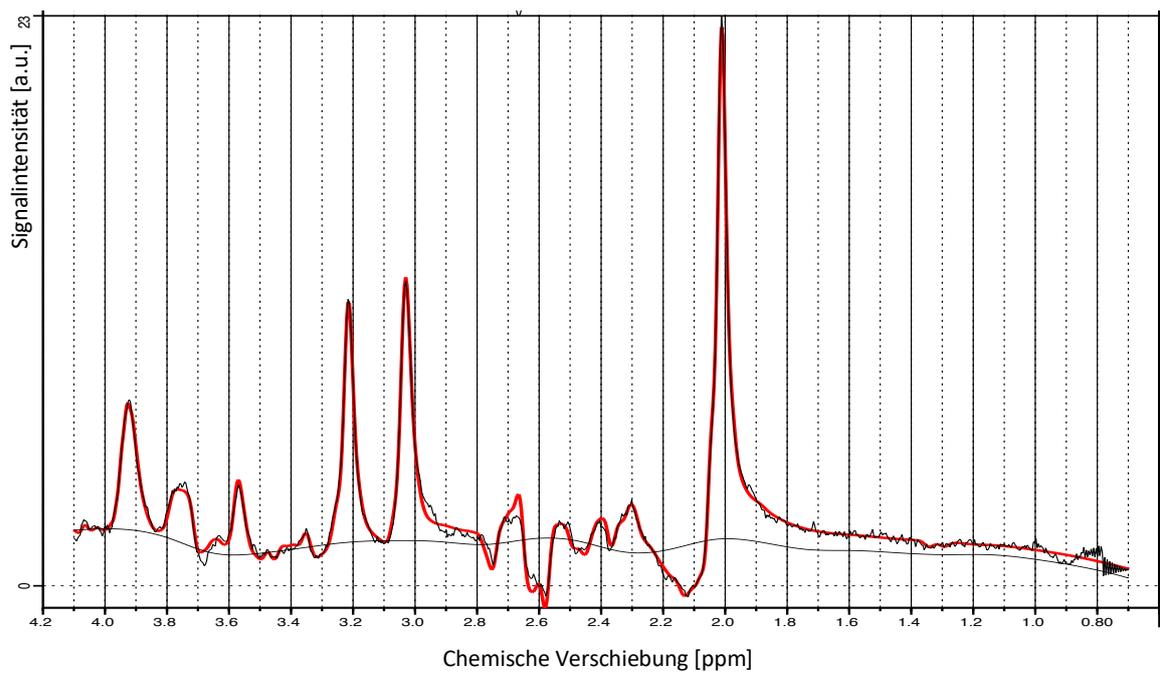


Abb. 15: Gemittelte Spektren bei $TE=135$ ms. Obiges Spektrum akquiriert mittels PRESS-Sequenz, unteres Spektrum akquiriert mittels Semi-LASER-Sequenz.

Abb. 16 stellt in einer zusammenfassenden Darstellung die gemittelten Spektren aller zehn Probanden bei einer Echozeit von 135ms dar. Jedes Spektrum wurde wie beschrieben aus bis zu 64 Einzelspektren berechnet. Die obere Abbildung zeigt diese Spektren bei Akquirierung mit der PRESS Sequenz. Die untere Abbildung stellt die korrelierenden Summenspektren bei Akquirierung mit der Semi-LASER Sequenz dar. Es zeigt sich bei beiden Sequenzen eine sehr hohe Spektrenqualität.

Des weiteren zeigen sich multiple Resonanzen weiterer Metaboliten. Eine sehr große Kongruenz der Spektren bei Akquirierung mit der jeweiligen Sequenz ist hervorzuheben und wird im Teil Diskussion weiter behandelt.

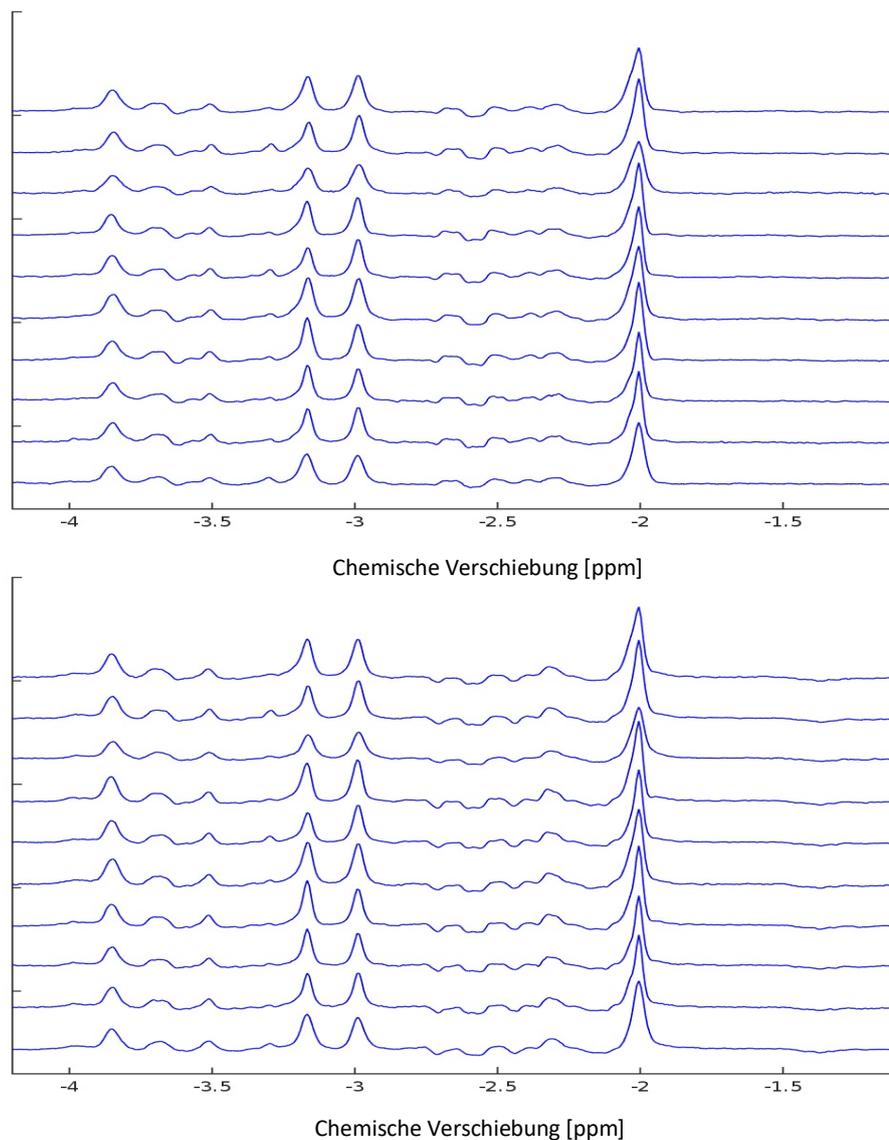


Abb. 16: Gemittelte Spektren aller 10 Probanden bei der Echozeit 135ms. Oben PRESS-Sequenz. Unten Semi-LASER-Sequenz.

Tabelle 2 zeigt ergänzend beispielhaft anhand der zehn gemittelten Spektren eines Probanden die Signal-Rausch-Verhältnisse dieser Spektren. Aus der Tabelle kann entnommen werden, dass diese sich tendenziell mit steigender Echozeit größer darstellen, sowie bei Messung mithilfe der semi-LASER Sequenz größer waren als bei Akquirierung mit der PRESS-Sequenz. Die in der Tabelle angegebenen Werte wurden von LCModel bei Analyse der Spektren ausgegeben.

Tab. 2: Signal-Rausch-Verhältnis der gemittelten ausgewerteten Spektren eines einzelnen Probanden.

	40ms	60ms	80ms	100ms	135ms
PRESS	33	39	41	33	44
SLASER	38	41	43	44	61

3.2 Spektrale Analyse mit LCModel

3.2.1 Bestimmung von Laktat in Hirntumoren

Die Auswertung der 18 MR-Spektren von 5 Patienten (TE=135ms, CSI PRESS-Sequenz) erfolgte via LCModel. Von jedem der fünf ausgewählten Patienten wurden vier Tumorspektren analysiert. Dazu wurden die drei LCModel-Einstellungen A, B und C verwendet. Es wurden die Cramér-Rao-Ratios und die relativen Konzentrationswerte von Laktat, NAA+NAAG, GPC+PCh und Cr+PCr bestimmt.

Abb. 17 zeigt die Auswertung eines Beispielspektrums eines Tumorpatienten mit den LCModel-Einstellungen A-C. Wie in Abb. 17A zu sehen ist, werden die Lipidsignale bei 1,3ppm durch Lip13a und Lip13b angepasst. Auch das Laktatsignal bei 1,31 ppm wird von LCModel angepasst. Die Basislinie ist vor allem im Bereich kleiner 1,5 ppm abfallend und ungerade. Dazu ist im Vergleich die Basislinie bei Auswertung mit Einstellung B deutlich gerader. In Abb. 17C ist eine deutlich gesteigerte Amplitude der Laktatanpassung durch LCModel zu erkennen. Das modifizierte Lip13 Signal kann an das Spektrum angepasst werden.

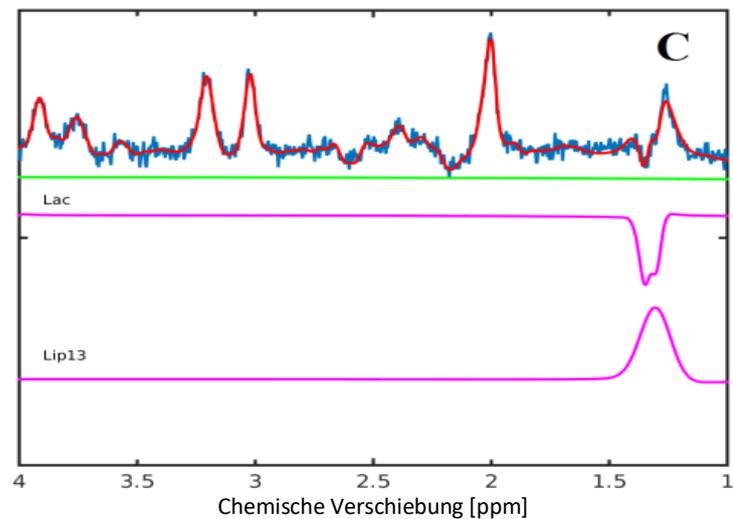
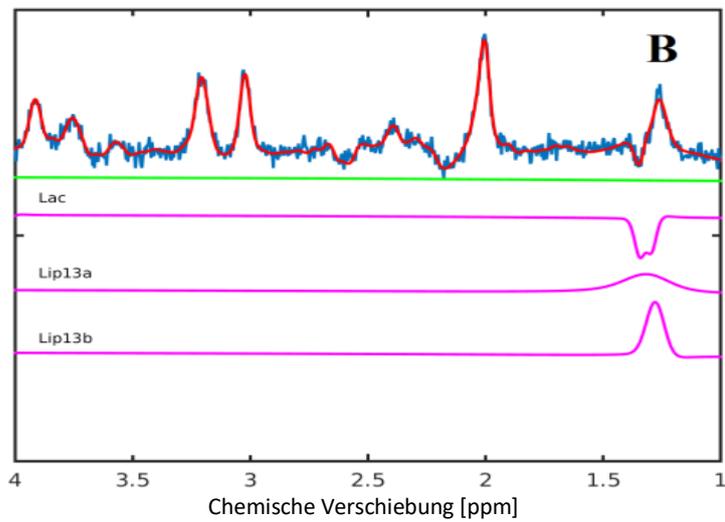
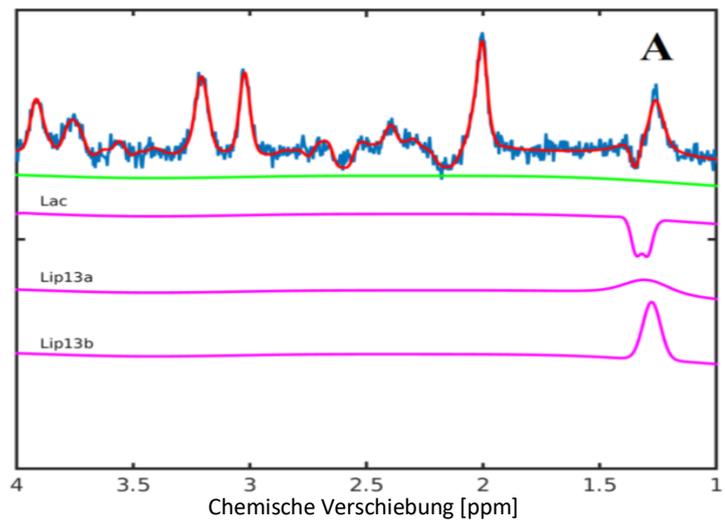


Abb. 17: MR-Tumorspektrum ausgewertet via LCMoDel unter Einsatz der Einstellungen A-C. Spektrum blau, LCMoDel-Anpassung rot, Basislinie grün, Anpassung an die Einzelspektren von Laktat und Lip13a und Lip13b pink.

Tab. 3 zeigt die Cramér-Rao-Ratios der Anpassung der Metabolitenspektren von Laktat, NAA+NAAG, GPC+PCh und Cr+PCr der 18 Tumorspektren mit den drei LCModel Einst. A-C. Bei Auswertung mit A liegt der CRLB von Laktat bei 12,0. Bei Einstellung B findet keine Veränderung statt, da der CRLB immer noch bei 11,8 liegt. Bei Auswertung mit dem modifizierten „Controlfile“ in Einst. C verbessert sich der CRLB auf 8,8.

Die CLRb-Werte der Anpassung der Metaboliten Cr+PCr und GPC+PCh ändern sich dagegen kaum zwischen den verschiedenen Einstellungen A-C. Bei der Auswertung von NAA+NAAG ist dagegen eine leichte Änderung der CRLB-Werte beobachtbar. Während der Wert bei Auswertung mit Einst. A bei 4,4 liegt, vergrößert er sich bei Analyse via Einst. B auf 6,6. Bei Einstellung C liegt er wiederum bei 3,8.

Tab. 4 stellt die zu Tab. 3 gehörigen Konzentrationswerte der Metaboliten bei Auswertung mit LCModel und den Einstellungen A-C dar. Sie verhalten sich äquivalent zu den CRLB-Werten. Eine deutliche Steigerung der erhaltenen Laktatkonzentration von 313 Einheiten auf 358 Einheiten ist bei Einsatz von „C“ im Vergleich zu Einstellungen A und B feststellbar. Die Konzentrationswerte von GPC+PCh und Cr+PCr ändern sich kaum. Bei Messung des Signals von NAA+NAAG ist wiederum eine kleine Steigerung von 157 auf 173 im Vergleich von Einstellung A zu C erkennbar.

Tab. 5 zeigt Konzentrationswerte von Laktat, Gesamtcholin und Gesamt-NAA in Relation gesetzt zur gemessenen Gesamtkreatinkonzentration.

Tab. 3: Mittlere Cramér-Rao Ratios (CRLB) von Laktat, Cholin, NAA+NAAG und Kreatin.

	Laktat [%SD]	GPC+PCh [%SD]	NAA+NAAG [%SD]	Cr+PCr [%SD]
Einst. A	12 ± 5,2	4 ± 0,8	4,4 ± 2,6	5,4 ± 2,5
Einst. B	11,8 ± 5,2	3,7 ± 1,1	6,6 ± 4,6	5,2 ± 2,4
Einst. C	8,8 ± 2,0	3,7 ± 1,1	3,8 ± 1,8	5,5 ± 2,5

Tab. 4: Mittlere Konzentrationswerte von Laktat, Cholin, NAA+NAAG und Kreatin.

	Laktat	GPC+PCh	NAA+NAAG	Cr+PCr
Einst. A	313	38	157	106
Einst. B	319	38	151	105
Einst. C	358	38	173	104

Tab. 5: Relative Konzentrationswerte von Laktat, Gesamtcholin und Gesamt-NAA relativ zur Gesamtkreatinkonzentration.

	Laktat/Cr+PCr	GPC+PCh/Cr+PCr	NAA+NAAG/Cr+PCr
Einst. A	2,95	0,36	1,48
Einst. B	3,04	0,36	1,44
Einst. C	3,44	0,37	1,66

3.2.2 Bestimmung von Glutamat und Glutamin im menschlichen Gehirn

Wie im Teil „Methoden“ erläutert, wurden zur Analyse und Auswertung der Spektren mittels LCModel Basisdatensätze berechnet. Grundlage dieser Basisdatensätze bilden Basisspektren der einzelnen Metaboliten, die im Basisdatensatz eingerechnet werden. Die Basisspektren der einzelnen Metaboliten wurden in dieser Arbeit mit Hilfe der Software VeSPA-Simulations simuliert.

Abb. 18 bis 20 zeigen Beispielbasisspektren der Metaboliten NAA, Gesamtkreatin und Gesamtcholin bei der Echozeit 40 ms unter Verwendung der PRESS-Sequenz, simuliert mit VeSPA-Simulation mit einer Linienweite von 1 Hz.

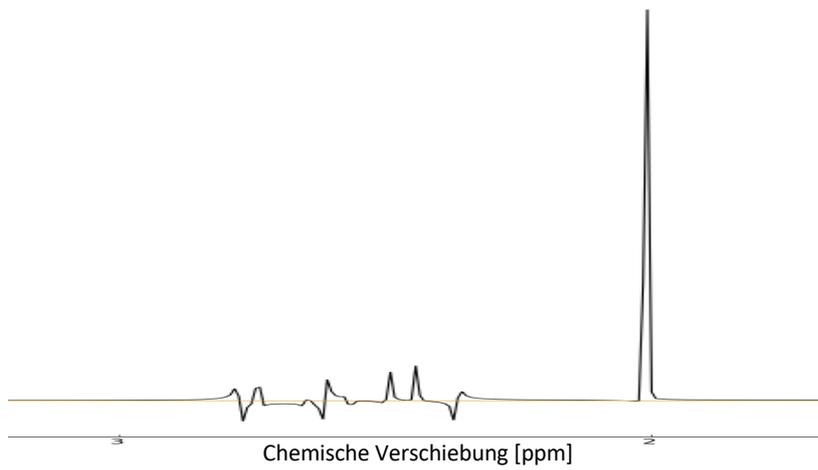


Abb. 18: Basisspektrum von NAA, simuliert mit VeSPA-Simulations. PRESS-Sequenz, 3T, TE=40ms, BW=1Hz.

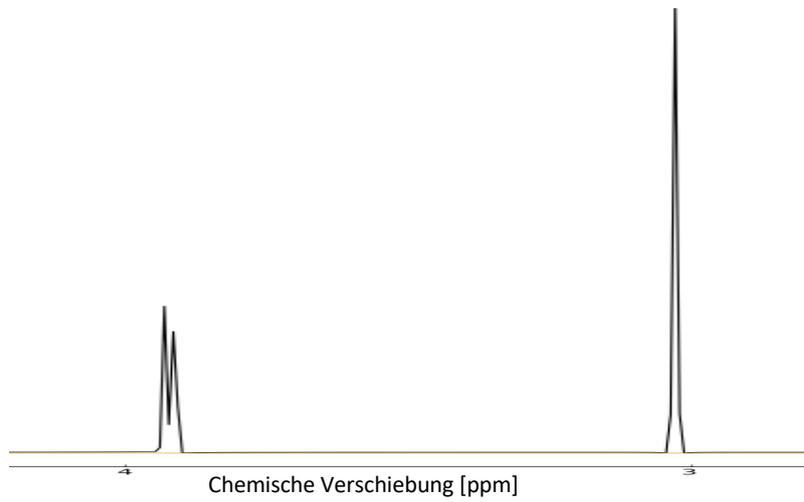


Abb. 19: Basisspektrum von Kreatin, simuliert mit VeSPA-Simulations. PRESS-Sequenz, 3T, TE=40ms, BW=1Hz.

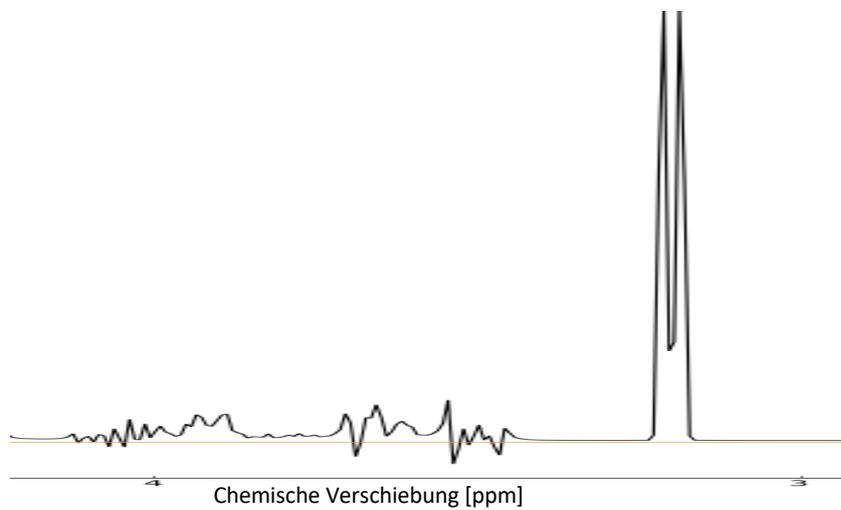


Abb. 20: Basisspektrum von Gesamtcholin, simuliert mit VeSPA-Simulations. PRESS-Sequenz, 3T, TE=40ms, BW=1Hz.

Für jeden der zehn Probanden wurde eine CSI Matrix von 16 mal 16 Spektren in einer Schicht knapp über dem Corpus callosum im Großhirn akquiriert. Dies erfolgte bei den Echozeiten $TE_{1-5} = 40\text{ms}, 60\text{ms}, 80\text{ms}, 100\text{ms}$ und 135ms unter Verwendung der PRESS-Sequenz und der Semi-LASER Sequenz, die miteinander verglichen werden sollen. Die inneren acht mal acht Spektren einer jeden Matrix stellen das VOI dar und wurden nach Frequenzkorrektur zu einem einzelnen Spektrum gemittelt. So ergaben sich pro Probanden zehn gemittelte Spektren, die dann via LCMoel unter Einsatz von drei verschiedenen Basisdatensätzen analysiert wurden.

Basisdatensatz A stellt wiederum den LCMoel Standardbasisdatensatz dar, der die 17 von S.W. Provencher vorgeschlagenen Metaboliten enthält [44]. Basisdatensatz B enthält 16 Metaboliten. Diese sind die gleichen wie in Basisdatensatz A, nur das Gln nicht enthalten ist. Basisdatensatz C enthält ebenfalls die 17 Metaboliten, allerdings sind Glu und Gln zu Glx zusammengefasst und werden nicht separiert von LCMoel angepasst.

Abb. 21 bis 23 zeigen die Auswertung der gemittelten Spektren, die mittels PRESS-Sequenz akquiriert wurden, via LCMoel unter Verwendung der drei verschiedenen Basisdatensätze A-C. Die jeweils oberen Diagramme stellen die Konzentrationswerte der Metaboliten Glu, Gln und $CR+PCr=Cr_{ges}$ gegen die Echozeit dar. Die jeweils unteren Diagramme zeigen die dazugehörigen CRLB-Werte von Glu und Gln, die sich bei Auswertung der Spektren mittels LCMoel ergaben.

Unabhängig des verwendeten Basisdatensatzes ergab sich stets ein abfallendes Verhalten der Konzentrationswerte des Cr_{ges} mit steigender Echozeit. Sämtliche CRLB-Werte lagen dabei unter 5%SD.

Bei Einsatz des Basisdatensatzes A ergab sich ebenfalls für Glu eine abfallende Tendenz der Konzentrationen mit steigender Echozeit. Der stärkste Abfall der Werte fand sich dabei zwischen den Echozeiten 40 ms und 60 ms. Die CRLB-Werte der Anpassung der Glu-Spektren lagen vollständig unter 15%SD. Die Konzentrationswerte von Gln zeigten keinen konstanten Abfall mit der Echozeit. Stattdessen stiegen die Werte zwischen den Echozeiten 60 ms und 100 ms stark an. Auch die CRLB-Werte lagen vor allem bei $TE=60$ ms und $TE=135$ ms teilweise deutlich über 20%SD. Dies ist in Abbildung 21 dargestellt.

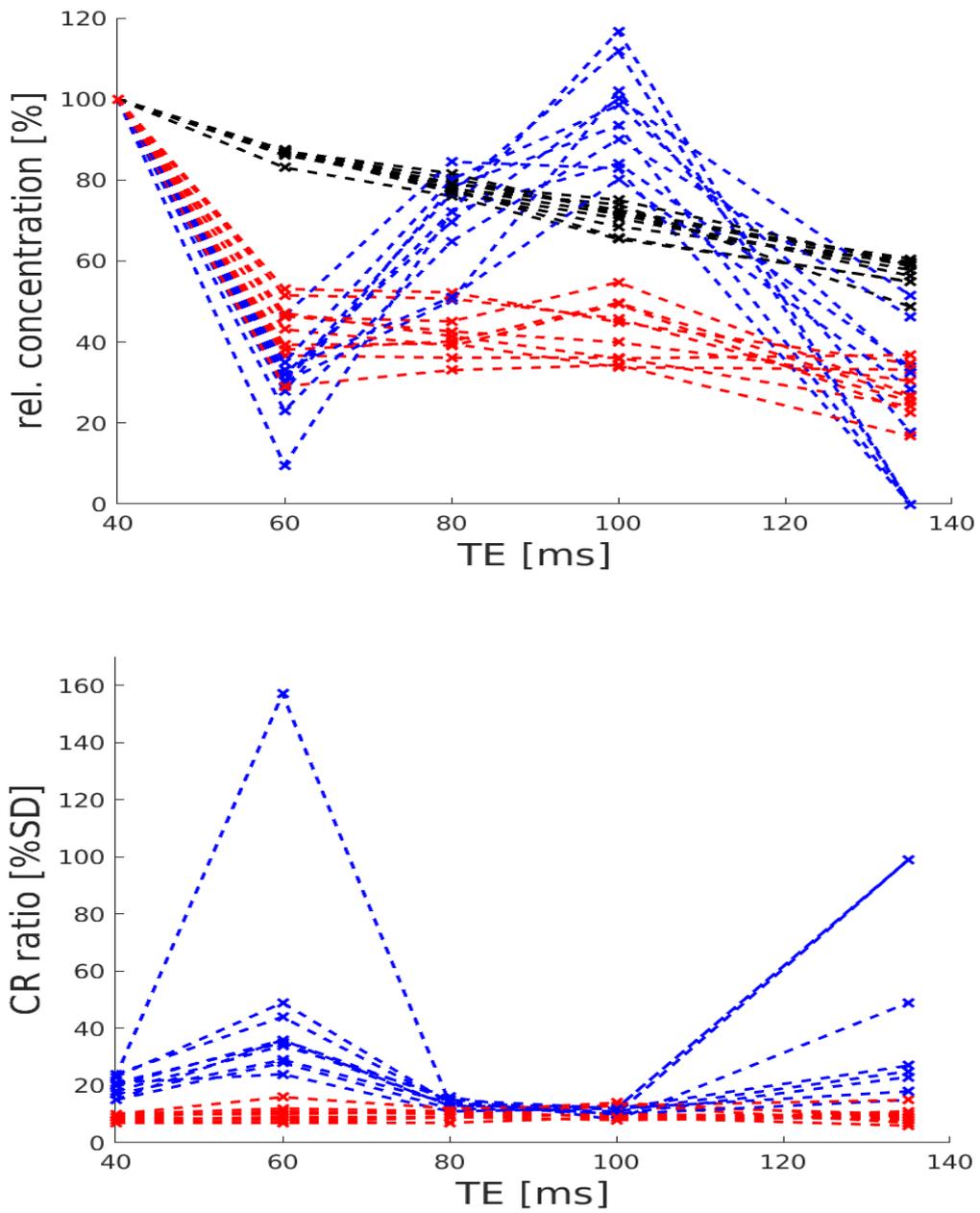


Abb. 21: Auswertung der Spektren mit PRESS und Basisdatensatz A. Oben: Konzentrationswerte der Metaboliten Kreatin (schwarz), Glutamat (rot) und Glutamin (blau). Unten: CRLB-Werte der Metaboliten Glutamat (rot) und Glutamin (blau).

Abb. 22 zeigt die Ergebnisse unter Verwendung von Basisdatensatz B. Die Glutamatkonzentration zeigt mit steigender Echozeit kein konsistentes Verhalten im Sinne eines T2-Abfalls. Die CRLB-Werte lagen bei 80ms allerdings teilweise deutlich über 20%SD.

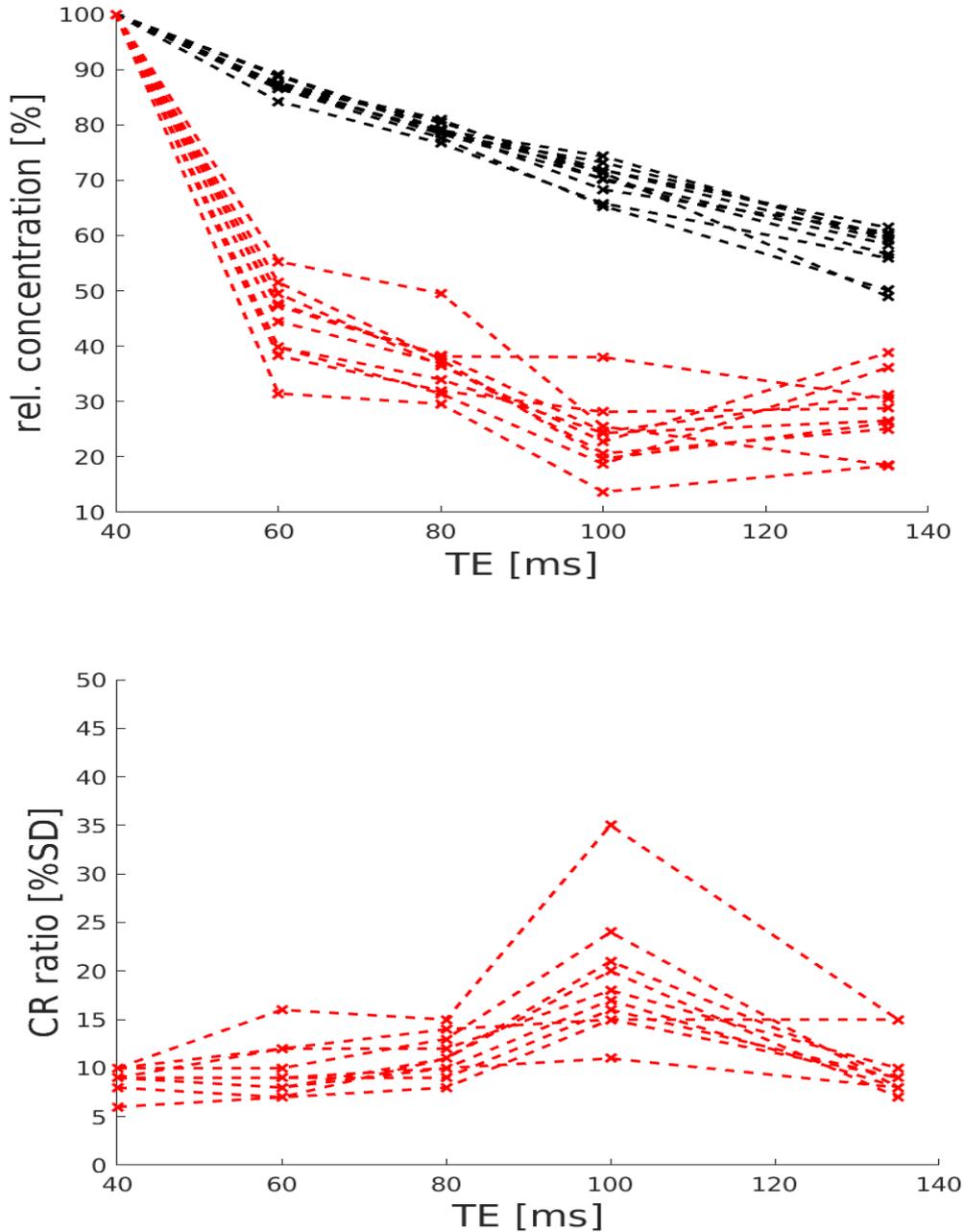


Abb. 22: Auswertung der Spektren mit PRESS und Basisdatensatz B. Oben: Konzentrationswerte der Metaboliten Kreatin (schwarz) und Glutamat (rot). Unten: CRLB-Werte des Metaboliten Glutamat (rot).

Auch bei Auswertung mit Basisdatensatz C zeigte sich kein stetiger Abfall der Konzentrationswerte von Glx. Die dazugehörigen CRLB-Werte lagen komplett unter 20%SD. Dies zeigt Abb. 23.

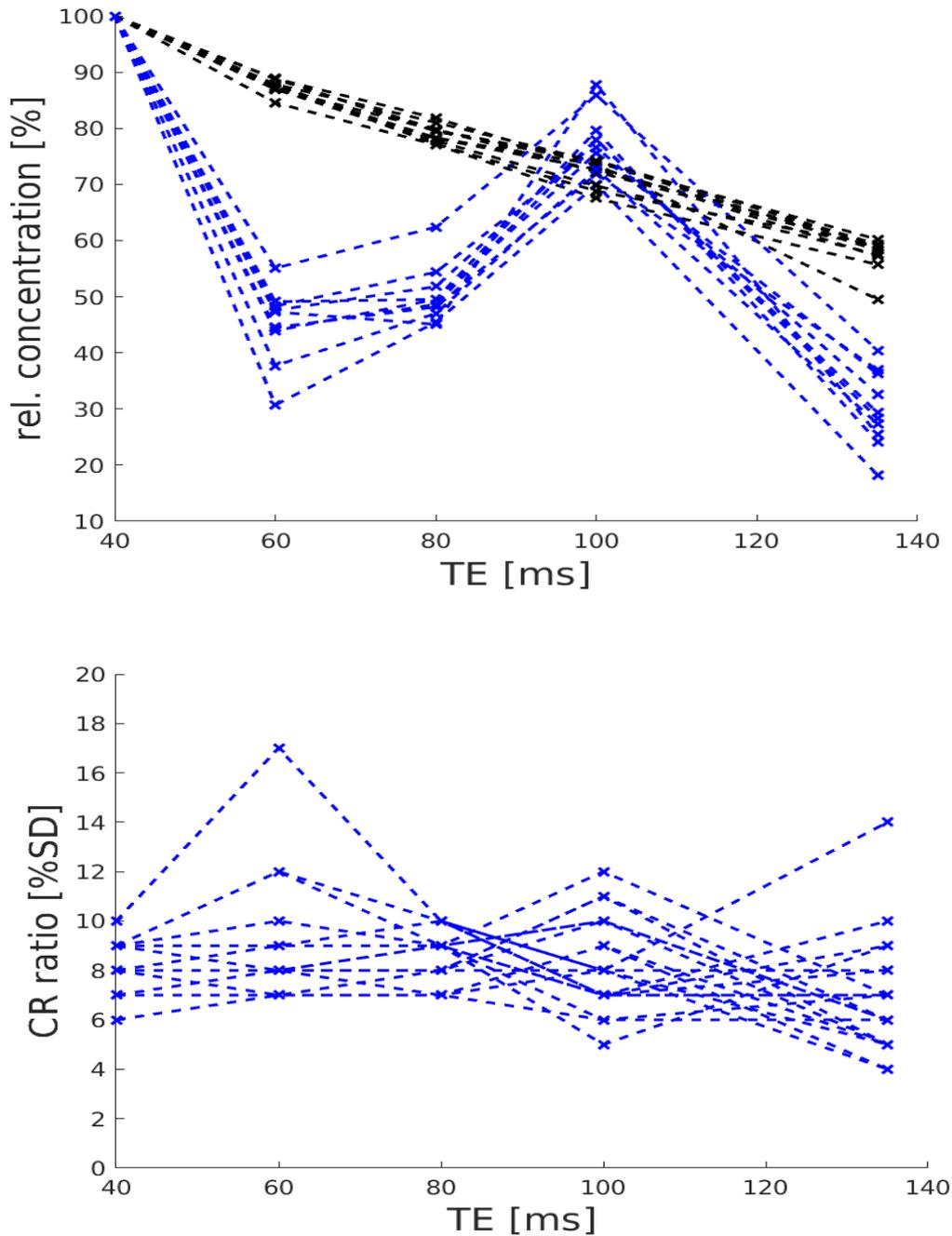


Abb. 23: Auswertung der Spektren mit PRESS und Basisdatensatz C. Oben: Konzentrationswerte der Metaboliten Kreatin (schwarz) und GLX (blau). Unten: CRLB-Werte des Metaboliten GLX (blau).

Abb. 24 bis 26 zeigen die gleichen Zusammenhänge wie die Abbildungen 21 bis 23, nur, dass für die Akquirierung der Spektren die Semi-LASER Sequenz verwendet wurde. Die jeweils oberen Abbildungen stellen die Konzentrationswerte der Metaboliten Glu, Gln und $CR+PCr=C_{r_{ges}}$ gegen die Echozeit dar. Die jeweils unteren Abbildungen zeigen die dazugehörigen CRLB-Werte von Glu und Gln, die sich bei Auswertung der Spektren mittels LCMoel ergaben.

Unabhängig des verwendeten Basisdatensatzes ergab sich stets ein abfallendes Verhalten der Konzentrationswerte des $C_{r_{ges}}$ mit steigender Echozeit. Sämtliche CRLB-Werte lagen auch hier unter 5%SD.

Bei Auswertung mittels Basisdatensatz A zeigte Glu einen stetigen Abfall zwischen $TE=40$ ms und $TE=100$ ms, stieg dann aber wieder zu $TE=135$ ms an. Die CRLB-Werte der Glu-Anpassung durch LCMoel blieben vollständig unter 20%SD. Die Konzentrationswerte von Gln zeigten keinen vollständigen Abfall von $TE=40$ ms nach $TE=135$ ms. Auch die CRLB-Werte waren teilweise deutlich über 20%SD erhöht. Dies zeigt Abb.24.

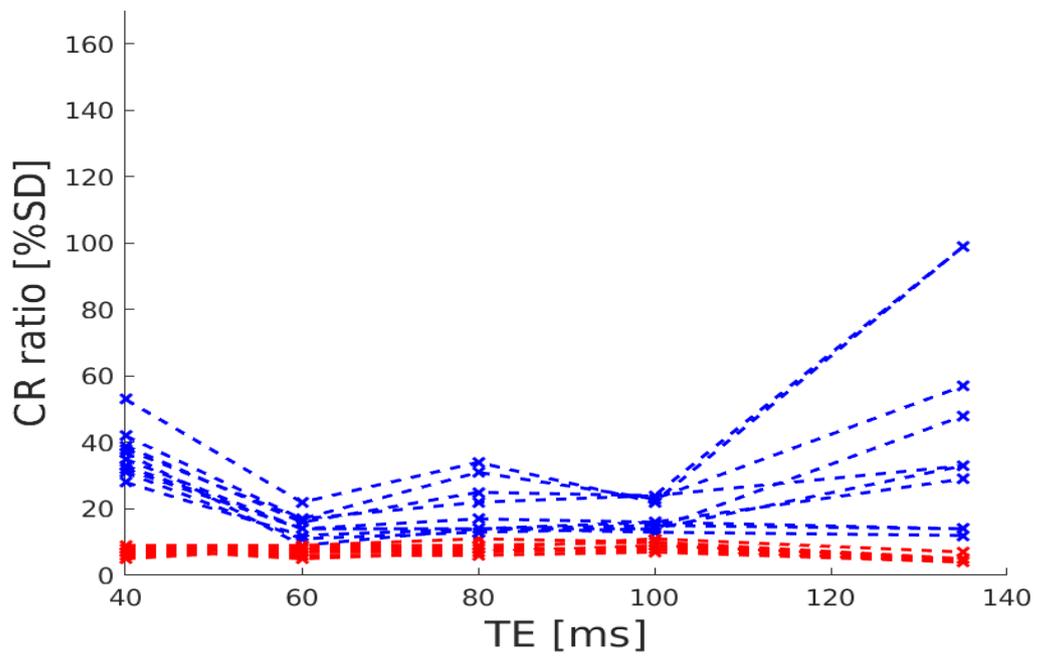
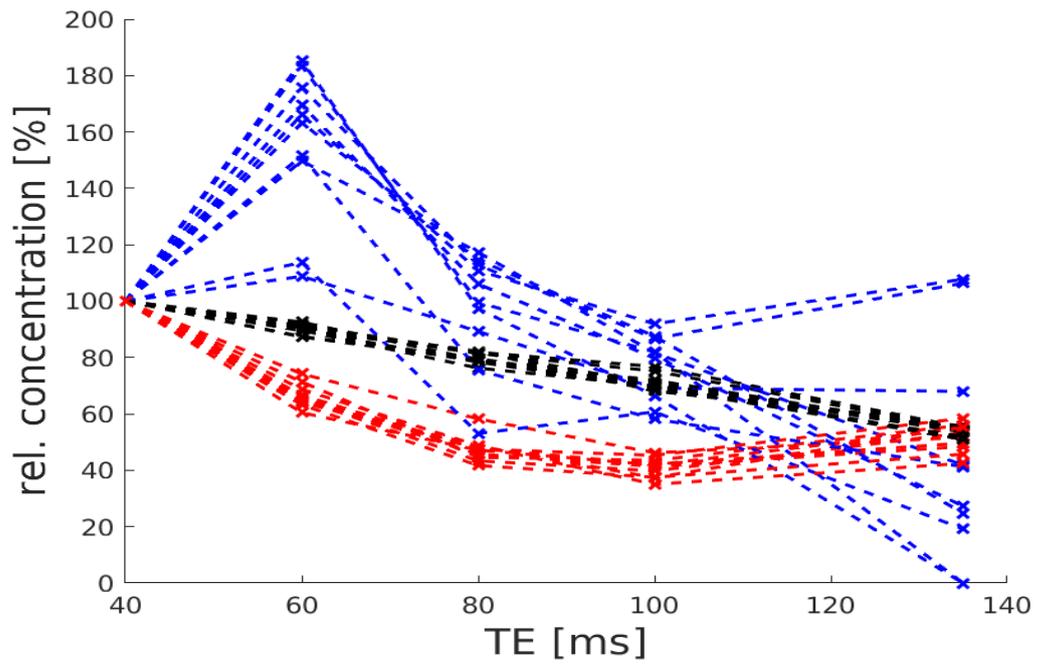


Abb. 24: Auswertung der Spektren mit SLASER und Basisdatensatz A. Oben: Konzentrationswerte der Metaboliten Kreatin (schwarz), Glutamat (rot) und Glutamin (blau). Unten: CRLB-Werte der Metaboliten Glutamat (rot) und Glutamin (blau).

Unter Verwendung von Basisdatensatz B zeigte die Glutamatkonzentrationen keinen konsistenten T2-Abfall mit steigender Echozeit. Die CRLB-Werte lagen vollständig unter 20%SD, wie in Abb. 25 zu erkennen.

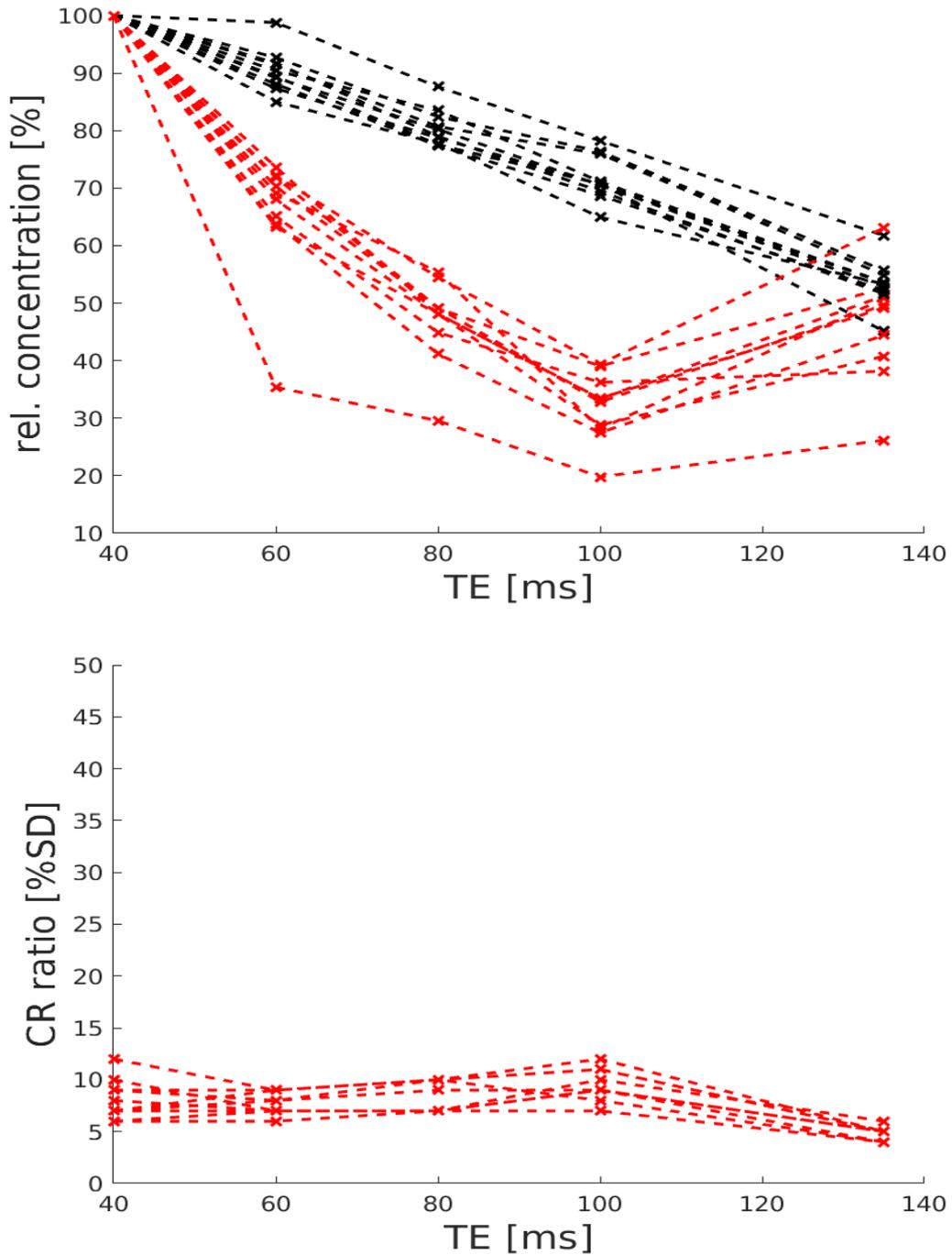


Abb. 25: Auswertung der Spektren mit SLASER und Basisdatensatz B. Oben: Konzentrationswerte der Metaboliten Kreatin (schwarz) und Glutamat (rot). Unten: CRLB-Werte des Metaboliten Glutamat (rot).

Bei Auswertung unter Einsatz von Basisdatensatz C zeigten die Konzentrationswerte von Glx einen abfallenden Verlauf zwischen TE=40ms und TE=100ms, steigen dann aber zu TE=135ms wieder an. Sie zeigten also einen ähnlichen Verlauf wie die Glu-Werte in (B). Auch hier lagen alle CRLB-Werte unter 20%SD. Dies zeigt Abb. 26.

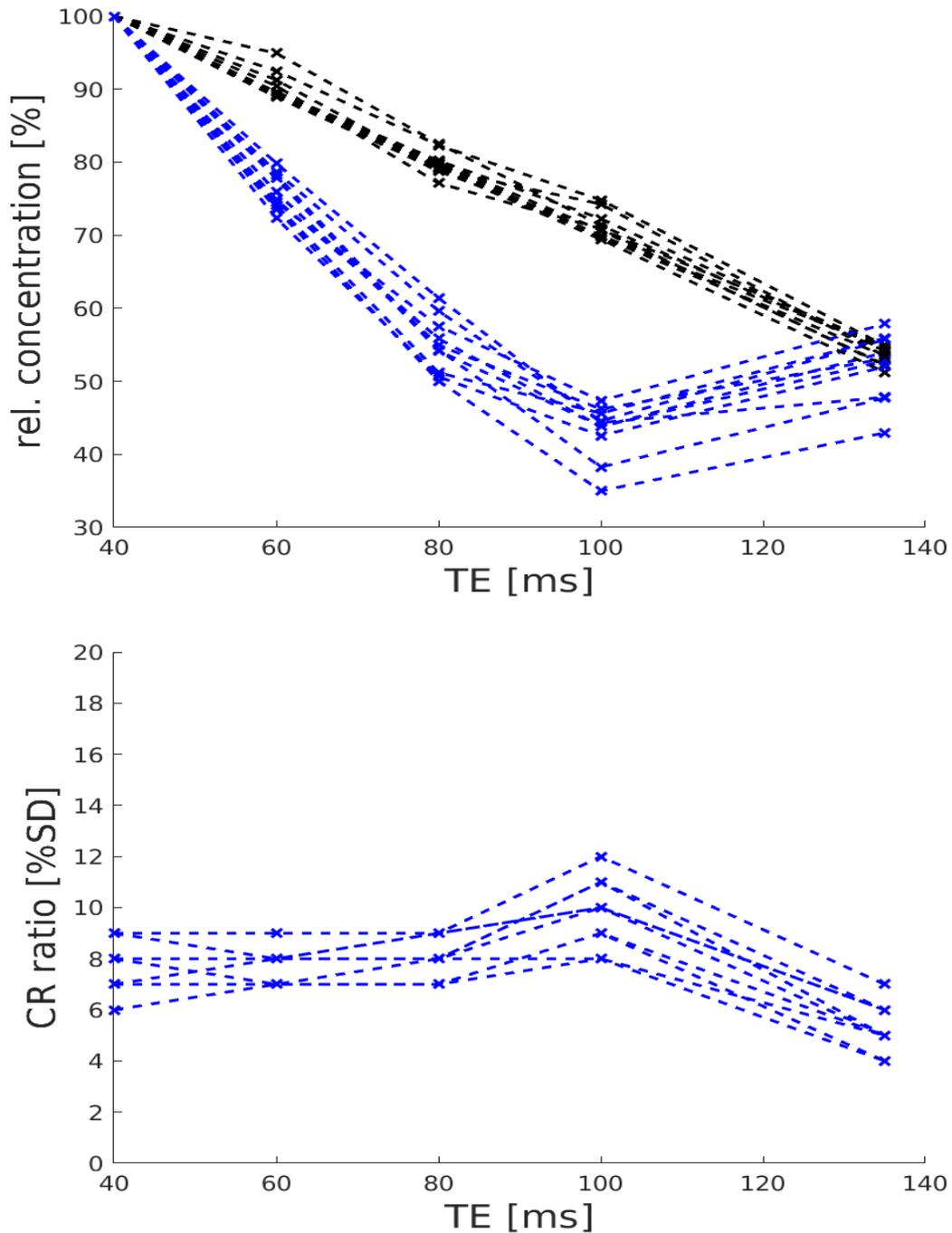


Abb. 26: Auswertung der Spektren mit SLASER und Basisdatensatz C. Oben: Konzentrationswerte der Metaboliten Kreatin (schwarz) und GLX (blau). Unten: CRLB-Werte des Metaboliten GLX (blau).

Abb. 27 stellt als Zusammenfassung der Abb. 21 bis 26 die durchschnittlichen Konzentrationswerte der Metaboliten Gesamtkreatin, Glutamat, Glutamin und Glx mit Standardabweichung im Verlauf über die Echozeit dar. Ausgewertet wurden die Spektren für diese Abbildungen mit dem Standard-LCModel Basisdatensatz mit 17 Metaboliten. Die obige Abbildung zeigt die Daten bei Akquirierung mittels PRESS-Sequenz, die untere bei Verwendung der Semi-LASER-Sequenz.

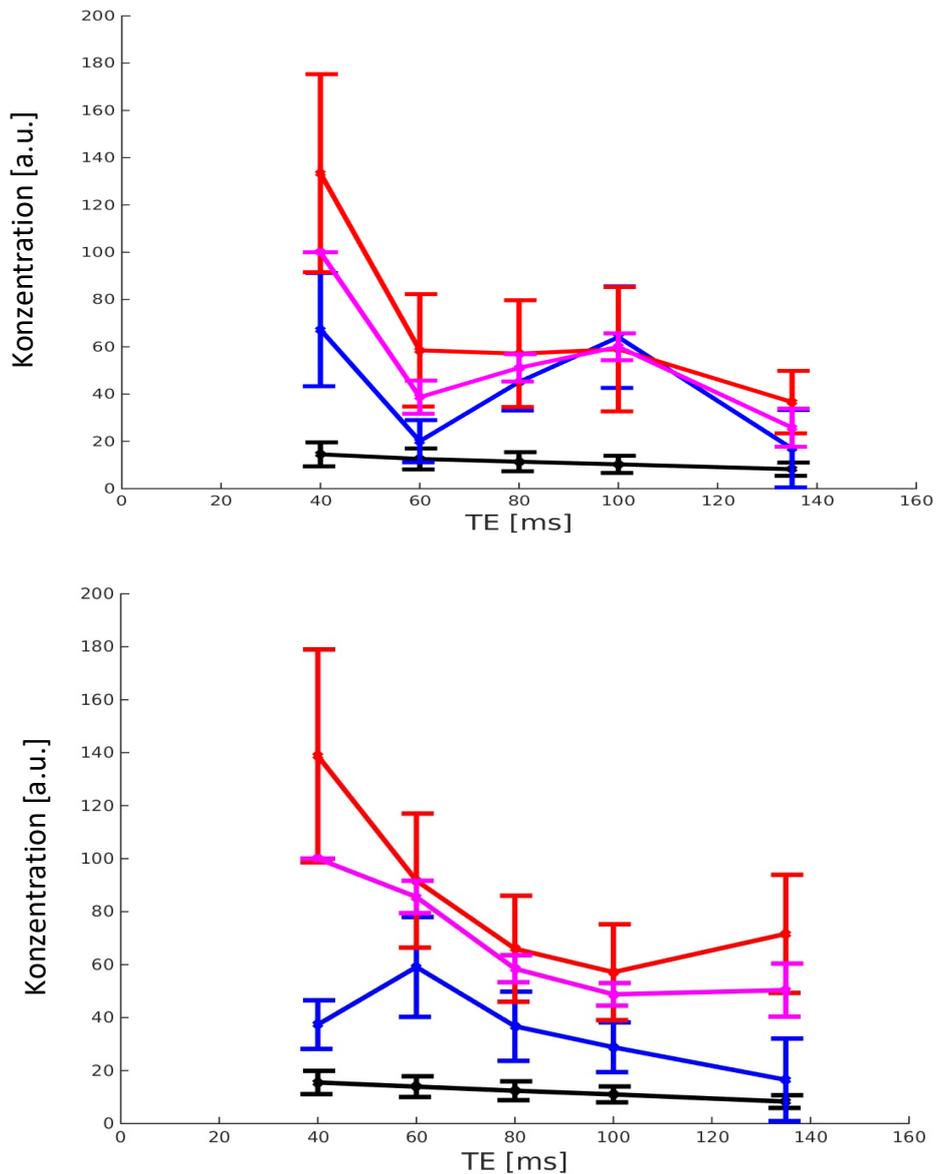


Abb. 27: Gemittelte Konzentrationswerte von Glutamat (rot), Glutamin(blau), Glx(rosa) und Kreatin(schwarz) bei Auswertung mit dem 17 Metaboliten enthaltenden Basisdatensatz A im Verlauf mit der Echozeit.; Semi-LASER-Sequenz.

Wird anhand der über alle Probanden gemittelten Konzentrationswerte von Glutamat bei Akquirierung mit der PRESS- Sequenz und Auswertung mit dem 17 Metaboliten enthaltenden Standardbasisdatensatz die T2-Zeit bestimmt, um Vergleiche mit der Literatur durchführen zu können, so ergibt sich eine Zeit von $T_{2\text{Glu}} = 86$ ms.

4 Diskussion

Seit Etablierung der in-vivo MR Spektroskopie in den 1980er Jahren stellt diese eine wichtige Methode in der Erforschung des zentralen Nervensystems und der klinischen Diagnostik von ZNS-Erkrankungen des Menschen dar.

Die MR Spektroskopie ist aber auch eine der Methoden in der in-vivo Bildgebung des menschlichen Körpers mit der schlechtesten Sensitivität und niedrigsten Ortsauflösung [2]. Zudem gibt es keine konsistenten Guidelines zur Anwendung der MRS in Klinik und Forschung [59]. Dadurch wird die MRS oftmals als Forschungsgegenstand und weniger als klinische Anwendung wahrgenommen.

Die MRS stellt allerdings auch die einzige Methode im Feld der radiologischen Bildgebung des menschlichen Körpers dar, mithilfe derer es möglich ist, in-vivo die Qualität und Quantität molekularer Strukturen zu messen und hat so neben ihren Einsatzmöglichkeiten in der Forschung, durchaus Relevanz und Potential als Diagnostiktool in der Klinik.

Im Folgenden sollen die Methoden und Ergebnisse der Quantifizierung von Laktat in Hirntumoren und von Glutamat und Glutamin im gesunden Gehirn diskutiert und kritisch bewertet werden.

4.1 Quantifizierung von Laktat in Hirntumoren

4.1.1 Diskussion der Methodik und der Ergebnisse

In physiologischem Hirngewebe von Erwachsenen liegt Laktat in einer Konzentration von weniger als 1 mM [60] vor und ist so durch die MRS nur mit Hilfe von spezieller Methoden wie zum Beispiel „J-difference-editing“ bei großen Feldstärken wie 7T und

kleinen Echozeiten quantifizierbar [61]. In Hirngeweben, in welchen ein anaerober Stoffwechsel abläuft, wie zum Beispiel in Hirntumoren liegt die Laktatkonzentration mit 4,1 mM in mittelgradigen und 7,0 mM in hochgradigen Gliomen deutlich höher und eine Quantifizierung mittels ^1H MRS ist so oftmals möglich [42]. Allerdings kann es dabei zu einer Verfälschung der Laktatquantifizierung kommen, da akkumulierende Lipide ebenfalls starke Signale im Frequenzbereich von 1,2 bis 1,4ppm verursachen und so das Laktatdublett bei 1,31ppm überdecken können.

Im ersten Teilarbeit der Dissertationsarbeit wurde eine modifizierte Auswertungsmethode von Tumorspektren mit LCModel untersucht und etabliert, die zum Ziel hat, eine verbesserte Trennung des Laktatsignals von den Lipidsignalen bei 1,3 ppm zu erreichen. Dazu wurden vier, im Standardbasisdatensatz von LCModel hinterlegte, simulierte Lipidsignale bei 1,3 ppm durch ein einzelnes neues Lipidsignal ersetzt. Zudem wurden dem Basisdatensatz zusätzliche Basisspektren von weiteren Metaboliten zugefügt, um eine verbesserte Spektrenanpassung durch LCModel zu erreichen.

Bei Auswertung von 20 Tumorspektren, die bei 3T und $TE=135$ ms im Rahmen einer anderen Studie akquiriert wurden, ergab sich eine deutliche Erhöhung der absoluten mittleren Laktatkonzentration von 313 auf 358 Einheiten, sowie eine Verbesserung der gemessenen mittleren Cramér-Rao Werte von 12 %SD auf 8,8 %SD. Die Quantifizierung anderer wichtiger Metaboliten wie der Choline oder der Creatine wurde dabei nicht negativ beeinflusst.

In der Literatur existieren verschiedene Ansätze und Methoden, das beschriebene Problem der korrekten Quantifizierung von Laktat in Hirntumoren bei vorhandenen Lipidsignalen bei 1,3ppm zu lösen. Sie reichen von Methoden wie der Quantifizierung bei multiplen Echozeiten [62], über verschiedene Methoden der spektralen Editierung, bis hin zu der Akquirierung von diffusionsgewichteten Spektren [63]. Eine Publikation, die auf ähnliche Weise wie in unserer Arbeit mit der Modifizierung der in LCModel simulierten Lipidsignale arbeitet, findet sich unseres Wissens in der Literatur nicht. Im Folgenden sollen daher die Methodik und die Ergebnisse dieser Arbeit mit denen anderer Arbeiten, die sich mit dieser Fragestellung der Laktatbestimmung beschäftigt haben, verglichen werden.

Eine Möglichkeit der verbesserten Quantifizierung von Laktat bei im Hirngewebe akkumulierten Lipiden ist die Spektrenakquisition bei multiplen Echozeiten. Eine Arbeit, die mit der Akquirierung von Spektren mit drei Echozeiten durchgeführt wurde, wurde 2005 von Yamasaki et al. in der Fachzeitschrift „Neurosurgical Review“ publiziert [62]. Im Rahmen dieser Publikation wurden Spektren von 276 Patienten im Hinblick auf das Vorkommen von Laktat und Lipiden ausgewertet. Von den 276 Patienten waren 163 an Hirntumoren erkrankt. Die Spektren wurden mit der Echozeit 144 ms akquiriert. Anschließend wurden Messungen mit den Echozeiten 30 ms und 288 ms durchgeführt. Hintergrund der Methode der multiplen Echozeiten, ist das Verhalten des Laktatsignals, sowie das der Lipidsignale bei den Echozeiten 30 ms, 144 ms und 288 ms. Eine besondere Eigenschaft des Laktatsignals ist das Verhalten der Polarität des Dubletts bei 1,3 ppm mit steigender Echozeit. Das Dublett ist bei niedrigen Echozeiten wie 30 ms positiv. Bei der Echozeit 144 ms ist diese Polarität vollständig umgekehrt und das Signal ist komplett negativ. Bei Verdoppelung dieser Echozeit, d.h. bei 288 ms ist die Polarität wiederum umgekehrt und das Laktatdublett stellt sich wieder vollständig positiv dar. Aufgrund niedriger T2-Zeiten nimmt das Signal von Lipiden mit steigender Echozeit immer weiter ab. Daraus folgt, dass das Signal bei der Echozeit von 30 ms am stärksten ist und bei 288 ms in der Regel kaum mehr messbar.

Vor diesem Hintergrund leuchtet es ein, dass eine Akquirierung von Hirntumorspektren mittels dieser drei Echozeiten eine verbesserte Differenzierung zwischen Laktatsignal und Lipidsignal ermöglicht.

Die gemessenen Spektren wurden in dieser Arbeit auf das Vorkommen von Lipiden und Laktat untersucht. Es ergab sich für die 163 Tumorspektren ein positives Vorkommen von Laktat bei 132 Patienten. Bei 95 Patienten fanden Yamasaki et al. ein positives Vorkommen von Lipidsignalen.

Eine Auswertung im Sinne eines Vergleichs dieser Methode mit der Messung bei nur einer Echozeit im Hinblick auf die Genauigkeit der Bestimmung und Differenzierung von Laktat und Lipiden erfolgte in dieser Arbeit nicht.

Neben dieser Publikation existieren mehrere andere Arbeiten, die u.a. die Bestimmung von Laktat und Lipiden bei zwei Echozeiten behandeln [64-66]. In allen Arbeiten wird allerdings keine suffiziente Trennung der Metabolitensignale erreicht.

Trotzdem können bei Betrachtung der Publikation von Yamasaki wichtige Informationen erfasst und Schlüsse für die Wertung dieser Dissertationsarbeit gezogen werden. So ist unsere Methodik zur genaueren Trennung von Laktat und Lipiden deutlich zeitsparender, da die Tumorspektren nur bei einer Echozeit akquiriert werden müssen. Dies bedeutet insbesondere für zu untersuchende, erkrankte Patienten eine Erleichterung. Gleichzeitig ist die Wahrscheinlichkeit, dass ein Spektrum mit schlechter Qualität akquiriert wird kleiner, wenn nur eines statt drei Spektren gemessen wird. Zur suffizienten Auswertung mit der Methode nach Yamasaki et al. sind pro Patient drei qualitativ hochwertige Spektren von Nöten, was bei der Anfälligkeit von MRS gegenüber Bewegung und Magnetfeldungleichmäßigkeiten nicht immer garantiert werden kann. Zudem die Methode dieser Dissertation unabhängiger von dem Können und der Erfahrung der Messenden und Auswertenden, da die Auswertung mit LCModel bei vorgegebenen Einstellungen untersucherunabhängig ist, was bei der Messung der Spektren nicht der Fall ist.

Die Ergebnisse der Arbeit von Yamasaki et al. können wie oben beschrieben nur schwer mit den Ergebnissen der vorliegenden Dissertationsarbeit verglichen werden, da die angewandte Methode nicht mit der Quantifizierung mit nur einer Echozeit verglichen wurde. Dennoch kann festgehalten werden, dass in einem Großteil der Tumorspektren Laktat detektiert wurde, was sich mit den Ergebnissen unserer Studie deckt.

Eine andere Methodik zur verbesserten Anpassung von Laktatsignal und Lipidsignalen in Tumorspektren des Gehirns mittels LCModel untersuchten Dorothee P. Auer et al. 2001 in der Arbeit „Improved Analysis of ^1H - MR Spectra in the Presence of Mobile Lipids“ [43]. Grundlage der Arbeit ist die gleiche Überlegung, die auch dieser Dissertation zu Grunde liegt. So ist die Anpassung der Lipidresonanzen bei 0,9 ppm und 1,3 ppm mittels des Standardbasisdatensatzes von LCModel nicht suffizient, um Lipide, Laktat und Alanin korrekt zu quantifizieren. Auer et al. untersuchten drei verschiedene Ansätze, den Basisdatensatz um weitere Resonanzen in Form von Modellspektren zu erweitern. Im ersten Ansatz wurde Olivenöl spektroskopiert und die gemessenen Resonanzen dem Basisdatensatz hinzugefügt. Im zweiten Ansatz wurden Lipidresonanzen hinzugefügt, die aus zwei in-vivo Spektren extrahiert wurden. Diese Spektren wurden in einem nekrotischen Anteil eines Glioblastoms und einer

Toxoplasmoseläsion akquiriert und wurden visuell daraufhin ausgesucht, dass sie zu einem Großteil nur aus Lipidresonanzen zusammengesetzt waren. Im dritten Ansatz wurden Lipidresonanzen bei 0,9 ppm und 1,3 ppm mit einer Bandbreite von 8 Hz mittels der Programme SAGE und IDL simuliert und dem LCMoDel Basisdatensatz hinzugefügt. Als Ergebnis der Arbeit ergab sich, dass die Basisdatensätze, welchen die Resonanzen des Olivenöls und die extrahierten Spektren hinzugefügt wurden, nicht suffizient sind, um Lipide in u.a. Tumorspektren verbessert quantifizieren und von dem Laktatsignal trennen zu können. Im Gegensatz dazu führte eine Auswertung mit dem Basisdatensatz, dem die simulierten Lipide zugefügt wurden, zu einer signifikanten Verkleinerung der Residuen der LCMoDel-Anpassung. Zudem wurden damit kleinere Laktatkonzentrationen mit kleineren Cramér-Rao Werten bestimmt.

Die Publikation von Auer et al. ist im Hinblick auf die angewandte Methodik gut passend um mit diesem Teil der Dissertation verglichen werden zu können. So arbeiteten sowohl wir als auch Auer et al. mit der Modifizierung des LCMoDel Standardbasissatzes, um eine verbesserte Anpassung der Lipid- und Laktatresonanzen zu erreichen. Allerdings wurden gegensätzliche Ansätze verfolgt. Während wir die Annahme zur Grundlage der Arbeit machten, dass bei einer hohen Echozeit von 135 ms aufgrund des T2-Abfalls nur noch wenig Lipidsignale im Spektrum vorhanden sind und somit ein reduziertes Spektrum an simulierten Lipidresonanzen im Basisdatensatz ausreichen um eine verbesserte Anpassung mittels LCMoDel zu erreichen, erweiterten Auer et al. den Standardbasissatz um weitere Lipidresonanzen bei 0,9 ppm und 1,3 ppm. Zur Beurteilung der Verbesserung der Qualität der Anpassung wurden die von LCMoDel ausgegeben Residuen der Anpassung quantifiziert. Je kleiner die Amplituden der Residuen, desto höher die Qualität der Anpassung. Werden die Residuen, die bei der Auswertung unserer Daten von LCMoDel ausgegeben wurden, visuell gesichtet und beurteilt, so muss festgehalten werden, dass sich die Residuen eher unverändert bis vergrößert bei Verwendung des modifizierten Basisdatensatzes im Vergleich zum LCMoDel-Standard darstellen. Dies spricht für die Tatsache, dass bei der Echozeit von 135 ms noch deutliche Lipidresonanzen in den Tumorspektren vorhanden sind, die nicht mittels eines einzelnen simulierten Lipidbasisspektrums bei 1,3 ppm ausreichend angepasst werden können.

Auch bei der Bestimmung der Konzentrationswerte ergaben sich bei Auer et al. andere Ergebnisse als in unserer Arbeit. Auer et al. bestimmten bei Anwendung des mit simulierten Lipidresonanzen modifizierten Basisdatensatzes signifikant kleinere Laktatkonzentrationen bei ebenfalls verkleinerten CRLB, was für eine verbesserte Anpassungsqualität durch LCModel spricht. In unserer Arbeit ergaben sich dagegen vergrößerte Laktatkonzentrationen bei ebenfalls verkleinerten CRLB. Die beiden Ergebnisse machen Sinn, da Auer et al. Lipidresonanzen dem Basisdatensatz hinzufügten und somit ein Teil der Signale statt dem Laktat den Lipiden zugeordnet wurde. In unserer Arbeit wurden dagegen Lipidsignale aus dem Basisdatensatz entfernt, sodass mutmaßlich ein Teil der Signale dem Laktat statt den Lipiden von LCModel zugeordnet wurde. Aufgrund der verkleinerten CRLB bei der modifizierten Auswertung ist auch in unserer Arbeit von einer verbesserten Anpassungsqualität an das Laktatsignal auszugehen.

Wie oben beschrieben, gibt es neben den beiden Veröffentlichungen von Yamasaki et al. und Auer et al. noch andere Arbeiten, die sich ähnlicher Methoden bedienen. Zudem gibt es einige Arbeiten, die methodisch weiter entfernt zu unserer Arbeit liegen. So konnten beispielsweise Smith et al. und Star-Lack et al. zeigen, dass mithilfe verschiedener Methoden der spektralen Editierung durchaus teilweise mit hoher Sensitivität Laktat getrennt von Lipiden quantifiziert werden kann [67, 68].

Eine weitere Möglichkeit der suffizienten Trennung der Lipidsignale von Laktat ist die diffusionsgewichtete Spektroskopie (DOSY). Eine Forschungsgruppe, die dies in-vivo an Tumoren in Rattenhirnen zeigen konnte, waren Wang et al. 2017 [63].

Aus dem Vergleich unserer Arbeit mit anderen Veröffentlichungen können mehrere Schlüsse und Folgerungen gezogen werden. Zuerst ist es ein sehr positives Ergebnis, dass mit Hilfe der von uns etablierten Methodik kleinere CRLB-Werte der Laktatanpassung berechnet wurden als mit dem LCModel Standardbasissatz bzw. Standard-Controllfile. Dies spricht für eine verbesserte Anpassungsqualität. Zudem wurden größere Laktatkonzentrationen in den Tumorvoxel ermittelt, da eine Anzahl an Signalen, die mit dem Standardbasissatz den Lipiden zugerechnet werden, in der modifizierten Auswertung dem Laktat zugeschrieben werden. Daraus folgt, dass mit der

von uns etablierten Methode kleine Laktatkonzentrationen in Geweben detektiert werden können.

Ein weiterer Vorteil unserer Arbeit, wie aus dem Vergleich mit anderen Arbeiten hervorgeht, ist die Einfachheit der Messmethode und Auswertungsmethode. Es sind keine weiteren Messungen als die Spektrenakquisition nötig. Zudem sind keine weiteren Rechnungen als die Spektralanalyse mit LCModel notwendig. Damit ist die von uns untersuchte Methode zeitsparend, mittelsparend und unabhängig von den Fähigkeiten und Erfahrungen des Auswertenden.

4.1.2 Limitationen der Arbeit und methodische Einschränkungen

Im Teil „Quantifizierung von Laktat in Hirntumoren“ dieser Dissertation wurde wie oben beschrieben eine neue Auswertungsmethode zur Bestimmung von Laktat in Hirntumorspektren mittels LCModel etabliert und untersucht. Dazu wurden CSI Tumorspektren mittels LCModel unter Verwendung der drei Einstellungen A-C analysiert. Wie bereits bei dem Vergleich mit anderen Arbeiten in der Literatur deutlich wurde, besitzt diese Arbeit Limitationen und methodische Einschränkungen, welche im Folgenden zusammenfassend erläutert werden sollen.

So wäre eine größere Anzahl an auswertbaren Voxel wünschenswert. Aufgrund oben genannter Ursachen war es lediglich möglich, die Spektren von fünf von 34 Patienten zu verwenden. So sind die Ergebnisse nur als Hinweis zu verstehen, dass Potential in dieser modifizierten Auswertung von Tumorspektren im Hinblick auf die Laktatquantifizierung steckt. Allerdings ist es ein schwieriges Unterfangen, qualitativ verbesserte Spektren von mehr Tumorpatienten zu bekommen, da diese in der Regel zeitnah nach Diagnose operiert werden und in dem kurzen präoperativen Zeitfenster andere Untersuchungen im Vordergrund stehen als die MR-Spektroskopie, die, insbesondere zur Akquirierung von qualitativ höherwertigen Spektren, doch relativ zeitaufwendig ist.

Auch die Verwendung der Echozeit von 135ms für die Akquirierung der Spektren war der klinischen Praxis geschuldet, da dies im Universitätsklinikum Tübingen die Standardechozeit zur Aufnahme von Tumorspektren ist. Dies macht auch Sinn, da die Spektren eine Übersicht über die Konzentrationsverhältnisse der Metaboliten im Hirntumor geben sollen und nicht speziell für die Quantifizierung von Laktat akquiriert

wurden. Eine Generierung der Spektren mit einer Echozeit von 144ms würde möglicherweise zu einer verbesserten Messung des Laktatsignals führen [62].

Ein weiterer Punkt, der zu einem höheren Erkenntnisgewinn in der Untersuchung der Auswertungsmethode mittels LCModel führen würde, aber im Rahmen dieser Dissertation nur am Rande berücksichtigt wurde, ist die Betrachtung der Residuen bei der Auswertung mit den Einstellungen A-C. Die Residuen werden durch LCModel automatisch ausgegeben und geben die Differenz zwischen der Amplitude des tatsächlichen MRS-Signals und der Amplitude der Anpassung durch LCModel an. So kann zum Beispiel daran abgelesen werden, ob im gemessenen Spektrum Metaboliten eine Rolle spielen, die nicht im verwendeten Basisdatensatz von LCModel hinterlegt sind und somit nicht suffizient angepasst werden können. Mit Hilfe der Residuen ist es so auch möglich, eine eventuell nicht vollständige Anpassung der Lipide bei Auswertung via C im Vergleich zu den Einstellungen A und B und detektieren. Eine methodische und statistische Erfassung wäre ein sinnvolles weiteres Projekt, um eine Aussage darüber treffen zu können, ob das eine Lipid Lip13 im Basisdatensatz ausreicht um eine vollständige, suffiziente Anpassung aller Resonanzen in den Spektren zu erreichen oder ob gegebenenfalls ein anderes Lipid oder noch weitere Lipide dem Basisdatensatz zugefügt werden müssen. Dies müsste auf Grund des Arbeitsumfangs im Rahmen eines eigenen, neuen Projektes untersucht werden.

4.2 Quantifizierung von Glutamat und Glutamin im gesunden Gehirn

4.2.1 Diskussion der Methodik und der Ergebnisse

Glutamat liegt in einer Konzentration von 6-13 mM/kg_{ww} im gesunden Gehirn vor, während Glutamin in einer Konzentration von 3-6 mM/kg_{ww} akkumuliert [4].

Folglich liegen die Konzentrationswerte beider Metaboliten im Gegensatz zum Laktat über der Nachweisgrenze einer MRS und können damit im physiologisch gesunden Gehirn nachgewiesen werden. Nichtsdestotrotz ist die korrekte, getrennte Quantifizierung beider Metaboliten via ¹H in-vivo MRS eine große Herausforderung. Dies hat mehrere Gründe. Zum einen ähneln sich Glutamat und Glutamin in ihrer

Molekülstruktur sehr und haben folglich sehr ähnliche Resonanzen, die circa bei 2,1 ppm, 2,5 ppm und 3,7 ppm liegen, was eine getrennte Quantifizierung erschwert. Zweitens sind beide Moleküle mit gekoppelten Spinsystemen. Dadurch ist die Signalamplitude, die gemessen wird, deutlich kleiner als bei ungekoppelten Spinsystemen. Drittens liegen die Resonanzen der beiden Moleküle in Frequenzbereichen, in denen auch viele andere Metaboliten wie zum Beispiel NAA, GABA und Glukose Signale verursachen und so die Signale von Glutamat und Glutamin überlagern. Eine vierte Schwierigkeit ist die Tatsache, dass GSH und NAAG in ihrer Molekülstruktur ebenfalls Glutamat enthalten, was eine korrekte Anpassung im Spektrum durch LCModel erschwert.

In diesem Teil der Dissertation wurde die Anpassung beider Metaboliten durch LCModel in MR Spektren aus gesundem Hirngewebe untersucht.

Es konnte gezeigt werden, dass mit Hilfe der Standardeinstellungen und Standardbasisdatensätze von LCModel keine suffiziente und kongruente Anpassung von Glutaminresonanzen und teilweise Glutamatesonanzen in MR Spektren des Gehirns möglich ist. Dies gelang, indem der Verlauf der mit LCModel gemessenen Konzentration der Metaboliten Glutamat und Glutamin mit ansteigender Echozeit betrachtet wurde. Insbesondere die Glutaminkonzentration zeigte keinen T2-Abfall, womit eine Inkonsistenz der Auswertung dieser Metaboliten mit LCModel nachgewiesen werden konnte. Durch Verwendung der qualitativ sehr hochwertigen, gemittelten MR-Spektren konnte die Aussage dieses Ergebnisses noch weiter gefestigt werden.

Die in dieser Dissertationsarbeit verwendeten Standardbasisdatensätze werden allerdings in Klinik und Forschung häufig verwendet, um Glutamat, Glutamin oder Glx via MRS und LCModel zu bestimmen. Bei Betrachtung der Ergebnisse von Publikationen und Studien, die sich dieser Methodik bedienen, muss gegebenenfalls das Ergebnis dieser Dissertationsarbeit berücksichtigt werden.

Im Folgenden sollen die von uns etablierte und angewandte Methodik, sowie die Ergebnisse unserer Arbeit bewertet, mit verschiedenen Arbeiten in der Literatur verglichen und Schlussfolgerungen gezogen werden.

Ein erster positiver Aspekt, der bezüglich der Ergebnisse dieses Teils der Dissertation genannt werden kann, ist die gute Spektrenqualität, die durch die sorgfältige Akquirierung und die Mittelung der gemessenen Einzelspektren der CSI Matrizen

erreicht werden konnte. Die Abbildung 15 zeigt dieses Ergebnis. Mithilfe dieser Methodik konnte ein Signal-Rausch-Verhältnis, je nach Echozeit und zur Akquisition verwendeten Sequenz, zwischen 33 und 61 erreicht werden (siehe Tab.2). Damit ist das erreichte SNR deutlich verbessert gegenüber den gemessenen Einzelspektren. Diese gemittelten Spektren sind somit sehr gut geeignet, um methodische Fragestellungen wie die unserer Arbeit zu bearbeiten, da der Einfluss von Störsignalen im Spektrum auf das Ergebnis der Auswertung deutlich reduziert ist.

Bemerkenswert an den durch unsere Messungen und Auswertung erhaltenen gemittelten Spektren ist zudem die große Ähnlichkeit von Spektren gleicher Echozeit und Sequenz von verschiedenen Probanden mit unterschiedlichem Geschlecht und Alter. Abb. 16 zeigt diesen Sachverhalt anhand der gemittelten Spektren der zehn Probanden bei der PRESS-Sequenz oben und der Semi-LASER-Sequenz unten bei der Echozeit 135ms. Diese interpersonelle Kongruenz der gemittelten Spektren bestätigt die gute Qualität dieser Spektren und die Güte unserer Methodik.

Aufgrund des guten Signal-Rausch-Verhältnisses der gemittelten Spektren können zudem eindeutig die Unterschiede zwischen Spektren verschiedener Sequenzen und Echozeiten visuell erkannt werden. So kann ebenfalls das Verhalten der verschiedenen Resonanzen von Glutamat und Glutamin unter sich ändernden Echozeiten verfolgt werden. Insbesondere die Echozeit 80ms scheint von den untersuchten Echozeiten am besten dazu geeignet zu sein, um Glutamat von anderen Metaboliten wie NAA und GABA zu unterscheiden. So ist bei $TE = 80ms$ das Multiplet mit Resonanzen bei 2,35ppm am deutlichsten von anderen Resonanzen abzugrenzen. Dieses Ergebnis wird durch eine Studie von Florian Schubert et al., die 2004 publiziert wurde, ebenfalls hervorgebracht [48]. Im Rahmen dieser Arbeit wurden mittels MRS die Konzentrationswerte von NAA, Cr, Cho, Glu und Gln im gesunden Gehirn bei 3T Scannerstärke bestimmt. Um die Konzentrationen von Glu und Gln optimal zu quantifizieren, untersuchten Schubert et al. im Vorfeld der Messungen anhand von Phantomspektren und in-vivo Spektren welche der Echozeiten 50ms, 80ms, 135ms, 250ms und 330ms am besten geeignet ist um die Glu-Multiplets von den Resonanzen anderer Metaboliten zu trennen und kamen zu dem Ergebnis, dass dies die Echozeit 80ms sei.

Um absolute Konzentrationen der untersuchten Metaboliten bestimmen zu können, wurden im Rahmen der Studie ebenfalls anhand von Messungen an drei Probanden die T2-Relaxationszeiten dieser Metaboliten bestimmt. Die verwendete TR war 3s, die verwendeten Echozeiten die oben genannten. Bei jedem Probanden wurde je ein Spektrum im linken Gyrus cinguli anterior (Acc) und eines im linken Hippocampus (Hc) akquiriert. Für den Acc ergab sich für Glutamat eine T2-Zeit von 194 ± 34 ms. Für den Hc ergab sich eine T2-Zeit von 171 ± 22 ms. Schubert et al. nahmen dabei für Gln die gleiche T2-Zeit wie für Glu an und maßen diese nicht separat. Damit liegen diese, von Schubert et al. ermittelten, T2-Werte deutlich höher als der von uns in-vivo anhand von zehn Probanden bestimmte Wert von 86ms.

In dieser Publikation von Schubert et al. wurde nicht dargelegt, welchen Wert die einzelnen Konzentrationswerte bei verschiedenen Echozeiten hatten, die verwendet wurden, um die T2-Zeiten zu berechnen. Die Auswertung der Spektren erfolgte nicht mit LCMoDel, sondern mit von F. Schubert entwickelter Software. Trotzdem kann nicht ausgeschlossen werden, dass auch in dieser Publikation der Verlauf der Konzentrationswerte mit der Echozeit dem in dieser Dissertationsarbeit beschriebenen Effekt unterlagen.

Anhand von 40 Probanden wurden dann ebenfalls mittels der oben genannten Sequenz bei der Echozeit 80ms Spektren in den beiden Gehirnregionen akquiriert. Diese gemessenen Spektren wurden dann mit Hilfe der ermittelten T2-Zeiten ausgewertet, um die absoluten Konzentrationen der Metaboliten NAA, Cr, Cho, Glu und Gln zu bestimmen.

Die ermittelten Glutamatkonzentrationen waren für den Acc $9,98 \pm 0,94$ mmol/l und für den Hc $10,49 \pm 1,38$ mmol/l. Die Glutaminkonzentrationen waren für den Acc $2,12 \pm 0,58$ mmol/l und für den Hc $2,09 \pm 0,76$ mmol/l.

Schubert et al. bestimmten ebenfalls Anpassungs-Unsicherheiten. Diese waren für Gln mit 54% (Acc) bzw. 74% (Hc) sehr hoch, was für eine eingeschränkte Anpassungsqualität für die Glutaminresonanzen in den gemessenen Spektren spricht. Dieses Ergebnis deckt sich ebenfalls mit den Ergebnissen unserer Auswertung. Die Ergebnisse und Methodik unserer Auswertung soll im Folgenden diskutiert werden.

Die Abbildungen 21 bis 26 zeigen die von uns im Rahmen dieser Arbeit ermittelten Konzentrationswerte und CRLB-Werte der Metaboliten Cr_{ges}, Glu, Gln und Glx für jeden einzelnen Probanden im Verlauf mit den Echozeiten 40ms, 60ms, 80ms, 100ms und 135ms bei Auswertung via LCModel.

Abbildung 27 zeigt Mittelwerte mit Standardabweichung der Metabolitenkonzentrationen aller zehn Probanden zusammen im Verlauf mit der Echozeit bei Auswertung mit dem Standardbasisdatensatz mit 17 Metaboliten.

Wie oben beschrieben, sind bei Akquirierung mit der PRESS-Sequenz die Verläufe der Metabolitenkonzentrationen mit der Echozeit nur teilweise mit einem T2-Abfall zu vereinbaren und damit die Auswertung als konsistent zu beurteilen. So zeigen die Kreatinkonzentrationswerte einen steten Abfall von 4 ms bis 135ms. Zudem sind die Standardabweichungen sehr klein, sodass auf eine qualitativ gute Auswertbarkeit der Kreatinkonzentration mit unserer Methodik geschlossen werden kann. Die CRLB sind ebenfalls kleiner 10 %SD und sprechen für eine gute Anpassungs-Qualität. Der Verlauf der Glutamatwerte mit steigender Echozeit kann aufgrund der großen Standardabweichungen ebenfalls mit einem T2-Abfall vereinbart werden. Auch hier sind die CRLB bei allen Echozeiten kleiner als 20%SD. Aus den großen Standardabweichungen der Konzentrationswerte und der im Vergleich zu Kreatin etwas erhöhten CRLB folgt, dass die Auswertung von Glu bei PRESS mit unserer Methodik zwar suffizient ist, allerdings die Auswertungs- und Anpassungsqualität etwas eingeschränkt ist im Vergleich zu Kreatin.

Wie in 3.2.2 beschrieben, ist die Auswertung, bzw. Anpassung der Gln-Resonanzen insuffizient mit unserer Methodik bei Akquirierung mittels PRESS-Sequenz, wie am Verlauf der Konzentrationswerte und den sehr großen CRLB zu schlussfolgern ist. Aufgrund dieser Insuffizienz der Gln-Anpassung zeigen die Glx-Werte in Abb. 23 ebenfalls keinen Abfall mit steigender Echozeit. Somit ist auch die Glx-Auswertung mit dem Standardbasisdatensatz von LCModel als insuffizient anzusehen.

Die Abbildungen 24-26 zeigen äquivalent zur Auswertung bei Benutzung der PRESS-Sequenz zur Spektrenakquirierung die Ergebnisse bei Verwendung der Semi-LASER-Sequenz. Es zeigen sich insgesamt sehr ähnliche Ergebnisse. So funktioniert auch hier die Auswertung der Kreatinkonzentrationswerte sehr gut. Der Verlauf der Glutamatwerte kann ebenfalls als T2-Abfall gewertet werden. Auch bei Akquirierung mittels SLASER

muss die Anpassung von LCModel an die Gln-Resonanzen als insuffizient gewertet werden. Die CRLB, die in Abb. 24 dargestellt sind, unterstützen dieses Ergebnis, da sie für die Gln-Auswertung teils deutlich erhöht sind.

Als Unterschied zu der Auswertung für die PRESS-Sequenz kann hervorgehoben werden, dass der Verlauf der Glx-Konzentrationswerte in Abb. 26 mit steigender Echozeit fraglich als T2-Abfall gewertet werden kann. Auch sind hier die CRLB kleiner als bei Akquirierung mit der PRESS-Sequenz. Insgesamt liefert die SLASER-Sequenz etwas kleinere CRLB, dies deutet darauf hin, dass hier die Auswertung etwas genauer erfolgt.

Insgesamt folgt aus unseren Messungen und Auswertung, dass es bei 3T Feldstärke nicht möglich ist, physiologische Konzentrationen von Glutamin im Gehirn suffizient mittels MRS und Auswertung mit der LCModel-StandardEinstellung zu quantifizieren. So zeigen gemessene Konzentrationswerte von Gln keinen T2-Abfall mit steigender Echozeit. Zudem werden hohe Cramér-Rao-Werte für die Auswertung mittels LCModel ausgegeben.

Aufgrund der nicht funktionierenden Auswertung der Gln-Resonanzen muss ebenfalls die Glx-Auswertung als insuffizient beschrieben werden. Insbesondere bei Akquirierung mittels PRESS-Sequenz zeigen die Glx-Werte keinen steten Abfall mit der Echozeit. Dieses Ergebnis ist dahingehend relevant, da die LCModel-StandardEinstellung in Studien und klinischen MRS-Untersuchungen häufig dazu verwendet wird, um die Gln-Konzentration oder insbesondere die Glx-Konzentration mittels MRS im Gehirn zu bestimmen. Das Ergebnis unserer Arbeit zeigt, dass es womöglich sinnvoller ist, auf die Auswertung von Gln zu verzichten und nur die Glu-Konzentration zu beachten. Die Abbildungen 22 und 25 zeigen allerdings, dass es keine Verbesserung bringt, Gln ganz aus dem Basisdatensatz auszuschließen, da dies die Glu-Auswertung negativ beeinträchtigt. Speziell die CRLB steigen bei Ausschluss des Gln-Basispektrums aus dem Basisdatensatz an und auch die Konzentrationswerte weichen vom Verlauf eines T2-Abfalls ab. Aufgrund der geringen Konzentration von Glutamin im gesunden Gehirn, der gekoppelten Resonanzen und der Überlappung mit NAA, GSH, Glu, GABA und mI gelingt mit Hilfe der von uns angewandten Methodik eine suffiziente, getrennte Quantifizierung nicht.

In der Literatur wird von verschiedenen Ansätzen der Bestimmung von Glutamin via MRS berichtet. Eine Arbeit, deren Methodik und Ergebnisse mit derer dieser Dissertationsarbeit verglichen werden sollen, wurde von Ralph Hurd et al. im Jahr 2004 publiziert [46]. Hurd et al. bestimmten ebenfalls bei 3 T mittels SVS-PRESS-Sequenz die Metabolitenkonzentrationen von NAA, Cholin, Kreatin, Glutamat und Glutamin. Dazu wurden Spektren bei multiplen Echozeiten zwischen 35ms und 335ms akquiriert und gemittelt.

In einem ersten Schritt simulierten Hurd et al. Basisspektren von Glu und Gln bei verschiedenen Feldstärken von 0,5T bis 7T und konnten so zeigen, dass diese Basisspektren deutlich weniger überlappen, wenn die diese über die Echozeit gemittelt werden. Im zweiten Schritt konnte gezeigt werden, dass bei in-vivo MRS mit einer TE-Mittelung von 35ms bis 335ms visuell die Resonanzen von Glu, Gln und NAA bei 2,35ppm voneinander getrennt darstellbar sind. Als nächstes konnten Hurd et al zeigen, dass eine TE-Mittelung von 16 Schritten von 35ms bis 185ms ausreichend ist, um eine Trennung der Resonanzen von Glu und Gln zu erreichen. Neben weiterer Auswertung wurden in der Arbeit als letzter Schritt die T2-Zeiten von NAA, Cho und Cr anhand der in-vivo Daten bestimmt. Die T2-Zeit von Glu wurde anhand von simulierten Spektren bestimmt. Die T2-Zeit von Gln wurde als gleich lang zu der von Glu angenommen. So bestimmten Hurd et al. mittels des Programms SAGE anhand der Signalintensitäten die absoluten Konzentrationen dieser Metaboliten. Die Glutamatkonzentration wurde anhand des Gipfels bei 2,35ppm berechnet. Die Signalhöhe von Glutamin wurde bestimmt, in dem von dem Glx-Gipfel bei 3,75ppm der Glu-Gipfel bei 2,35ppm subtrahiert wurde. Auch in dieser Arbeit wurden wie bei Schubert et al. zwei Hirnregionen bei gesunden Probanden analysiert, allerdings wurde hier zwischen grauer Substanz (GM) und weißer Substanz (WM) differenziert. Für WM ergab sich eine Glu-Konzentration von 7,1 mmol/kg_{ww} und ein Gln-Wert von 1,7 mmol/kg_{ww}. Für GM bestimmten Hurd et al. entsprechend 11,7 mmol/kg_{ww} und 3,2 mmol/kg_{ww}. Diese Werte liegen somit in der gleichen Größenordnung wie die Ergebnisse von Schubert et al., sowie der in der Literatur anerkannten Werte [6].

Diese Studie von Hurd et al. zeigt, dass es durchaus ein vielversprechender Ansatz für die Bestimmung von Glu und Gln ist, eine größere Anzahl von Spektren zu mitteln um die Resonanzen beider Metaboliten zu trennen. So scheint die Mittelung von Spektren

über multiple Echozeiten einen Vorteil im Vergleich zur Mittelung von Spektren bei je nur einer Echozeit zu bringen. Ein weiterer Unterschied zur Methodik in dieser Dissertation ist die Auswertungsmethodik, die Hurd et al wählten. Diese verwendeten nicht LCModel, sondern das Programm SAGE, mithilfe dessen mittels der T2-Zeit und der Signalintensität K bei TE=0 ms anhand der Signalhöhe des Metabolitenspektrums die Konzentration dieses Metaboliten bestimmt werden kann. Zudem wurde keine Aussage über die Qualität dieser Auswertung getroffen, wie in unserer Arbeit anhand des T2-Abfalls und der CRLB getroffen wurde. Hervorzuheben ist zudem, dass auch Hurd et al. Glu nicht direkt quantifizieren konnten, sondern Glu von Glx subtrahierten.

Es scheint, dass für die direkte und korrekte Quantifizierung weiterführende Methoden wie spektrale Editierung oder höhere Feldstärken von mindestens 7T nötig sind, wie in der Review-Arbeit von Ramadan et al. [6] zusammengefasst.

4.2.2 Limitationen der Arbeit und methodische Einschränkungen

Wie im Ergebnisteil gezeigt, ist es auch mittels der von uns etablierten Methodik nicht möglich, Glutamin sicher zu quantifizieren. Die Bestimmung von Glutamat ist dagegen deutlich besser realisierbar. Schlussendlich scheinen die Schwierigkeiten bei der Glutaminbestimmung doch zu groß, um diesen Metaboliten mit einer relativ einfachen und kliniknahen Methode mittels ^1H in-vivo MRS bei 3T zu bestimmen.

Trotzdem besitzt diese Arbeit doch großes Potential. So konnte eine Mess- und Auswertungsmethodik entwickelt und etabliert werden, welche es ermöglicht, Spektren mit sehr hoher SNR zu erstellen. Diese qualitativ hochwertigen Spektren sind dann in einem zweiten Schritt sehr gut dazu geeignet, um an ihnen methodische Fragestellungen zu untersuchen.

Des Weiteren konnte im Rahmen dieser Arbeit nachgewiesen werden, dass die Quantifizierung von Glutamat und Glutamin mittels MRS und LCModel nicht suffizient ist. So ergaben sich Widersprüche bei Betrachtung der Konzentrationswerte dieser beiden Metaboliten im Verlauf mit der Echozeit. Ein regelhafter T2-Abfall konnte nicht nachgemessen werden.

Ein Vorteil dieser Methode ist zudem, dass keine speziellen Akquisitionsmethoden wie zum Beispiel „COSY“ nötig sind und die Spektren somit mit LCModel auswertbar sind. Auch ist im Anschluss an die Akquisition eine vergleichbar einfache Rechenoption der Mittelung der 64 Spektren des VOI nötig und kein kompliziertes Editing oder ähnliches.

Es sind mehrere Einschränkungen und Limitationen der von uns verwendeten Methodik in Spektrenakquirierung und –auswertung zu nennen.

Zuallererst ist die Probandenanzahl von zehn recht limitiert. Die Spektren der zehn Probanden sind aber so ähnlich zueinander, dass eine höhere Anzahl an Probanden kein anderes Ergebnis erbringen würde. Es wurden fünfzehn Probanden spektroskopisch untersucht, wobei die Daten von fünf aus verschiedenen Gründen wie Messabbruch oder starken Bewegungsartefakten nicht für die Analyse verwertbar sind. Da die zehn gemittelten Spektren pro verwendeter Sequenz allerdings eine sehr hohe Kongruenz aufweisen, wäre eine größere Anzahl an Probanden nicht obligat um die getroffenen Schlussfolgerungen aus unseren Ergebnissen zu ziehen.

Bei Simulation der Basisdatensätze wurden für die PRESS-Sequenz und Semi-LASER-Sequenz ideale RF-Pulse angenommen. Dies stellt keine Einschränkung der Methodik in dieser Arbeit dar, da mittels dieser Basisspektrensimulation die Realität sehr genau nachgebildet wird.

Aufgrund leichter Unterschiede in der T2-Zeit von Glutamat und Glutamin ändert sich deren Verhältnis in der MRS mit steigender Echozeit. Auch dieser Sachverhalt wurde bei Erstellung der Basisdatensätze nicht beachtet, da dieser Effekt als äußerst gering angenommen wurde und eine Beachtung bei Erstellung der Basisdatensätze keinen erstrebenswerten Vorteil der Methodik einbringen würde. Nichtsdestotrotz stellt auch diese Tatsache eine Limitation unserer Methode dar.

5 Zusammenfassung

In dieser Dissertation wurden in zwei Teilen die Möglichkeiten der Quantifizierung von Metaboliten im Gehirn via ^1H in-vivo MRS und der Auswertung mittels LCModel untersucht.

Im ersten Teil der Arbeit wurde eine Methode etabliert, die auf eine verbesserte Akquirierung von Laktat in Hirntumoren und der Trennung des Laktatsignals von überlagernden Lipidsignalen abzielt. Laktat ist ein wichtiger Marker anaeroben Stoffwechsels und somit ein Tumormarker in der MRS. Dazu wurden 20 multi-Voxel-Tumorspektren bei einer Echozeit von 135ms von 5 Hirntumorpatienten mit einer modifizierten LCModel-Auswertung analysiert. Es konnte eine Vergrößerung der Laktat-Kreatin-Ratio von durchschnittlich 2,95 auf 3,44 und eine Verkleinerung der mittleren Cramér-Rao-Werte von 12 auf 8,8 erreicht werden. Die Anpassung anderer wichtiger Metaboliten wurde dabei nicht negativ beeinflusst.

Im zweiten Projektteil wurden die Möglichkeiten der Quantifizierung von Glutamat und Glutamin im gesunden Gehirn von Probanden bei Variation der Echozeit beleuchtet. Dazu wurden mit den zwei verschiedenen CSI-Sequenzen PRESS und Semi-LASER bei fünf Echozeiten (40ms, 60ms, 80ms, 100ms, 135ms) Spektren akquiriert. Die Spektren des VOI jedes Datensatzes wurden gemittelt, um eine gute Spektrenqualität zu erreichen und dann mittels LCModel ausgewertet. Dabei wurden drei verschiedene LCModel-Basisdatensätze verwendet. Diese unterschieden sich in dem Einsatz von Glutamat- und Glutaminbasisspektren im Basisdatensatz. Der erste Basisdatensatz enthielt beide Metaboliten. Im zweiten Basisdatensatz wurde nur Glutamat verwendet, während im dritten Basisdatensatz Glutamat und Glutamin im Verhältnis 7:3 zu Glx zusammengefasst wurden. Diese drei Datensätze wurden angewandt um das Verhalten der Resonanzanpassung durch LCModel zu eruieren.

Im Rahmen der Auswertung wurde das Verhalten der Konzentrationswerte der Metaboliten mit steigender Echozeit untersucht. Es zeigte sich, dass das neurometabolische Profil der Probanden unabhängig von Geschlecht und Alter sehr ähnlich ist und dass diese Methode gut geeignet ist, um qualitativ hochwertige MR Spektren hervorzubringen. Eine adäquate Quantifizierung des Metaboliten Glutamat ist ebenfalls mit dieser Methodik möglich. Die Quantifizierung des deutlich schwieriger zu

messenden Metaboliten Glutamin war allerdings insuffizient. Dieses Ergebnis ergab sich anhand des Verlaufs der Glutaminkonzentrationswerte mit steigender Echozeit. Diese beschrieben unabhängig von der zur Akquirierung verwendeten Sequenz keinen konstanten T2-Abfall.

Dadurch konnte gezeigt werden, dass das oftmals in der Forschung und Klinik genutzte Vorgehen der Bestimmung von Glutamat, Glutamin oder Glx mit LCModel kritisch hinterfragt werden sollte.

Tübingen, den 24.02.2020

Simon Männlin

Prof. Dr. Uwe Klose

6 Literaturverzeichnis

1. *VeSPA - Versatile Simulation, Pulses, and Analysis*. 2019 [09.05.2019]; Available from: <https://scion.duhs.duke.edu/vespa/>.
2. Hajek, M. and Dezortova, M., *Introduction to clinical in vivo MR spectroscopy*. Eur J Radiol, 2008. **67**(2): p. 185-93.
3. de Graaf, R.A., *In vivo NMR Spectroscopy Principles and Techniques*. 2 ed. 2007: John Wiley and Sons, Ltd.
4. Govindaraju, V., Young, K., and Maudsley, A.A., *Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites*. NMR Biomed, 2000. **13**(3): p. 129-53.
5. Mader, I., Rauer, S., Gall, P., and Klose, U., *(1)H MR spectroscopy of inflammation, infection and ischemia of the brain*. Eur J Radiol, 2008. **67**(2): p. 250-7.
6. Ramadan, S., Lin, A., and Stanwell, P., *Glutamate and glutamine: a review of in vivo MRS in the human brain*. NMR Biomed, 2013. **26**(12): p. 1630-46.
7. Mason, G.F.G., R.; Rothman, D. L.; Behar, K. L.; Shulman, R. G.; Novotny, E. J., *Simultaneous determination of the rates of the TCA cycle, glucose utilization, alpha-aketoglutarate:Glutamate exchange, and glutamine synthesis in human brain by NMR*. J Cereb Blood Flow Metab., 1995. **15**(1): p. 12-25.
8. Schousboe, A.W., H., *Role of astrocytes in glutamate homeostasis: Implications for excitotoxicity*. Neurotoxicity Research, 2005. **8**(3-4): p. 221-5.
9. Hertz, L. and Zielke, H.R., *Astrocytic control of glutamatergic activity: astrocytes as stars of the show*. Trends Neuroscience, 2004. **27**(12): p. 735-43.
10. Bak, L.K.S., A.; Waagepetersen. H. S., *The glutamate/GABA-glutamine cycle: aspects of transport, neurotransmitter homeostasis and ammonia transfer*. J Neurochem., 2006. **98**(3): p. 641-53.
11. Sibson, N.R.D., A.; Mason, G. F.; Rothman, D.L.; Behar. K. L.; Shulman, R. G., *Stoichiometric coupling of brain glucose metabolism and glutamatergic neuronal activity*. Proc Natl Acad Sci USA, 1998. **95**(1): p. 316-21.
12. Yuksel, C. and Ongur, D., *Magnetic resonance spectroscopy studies of glutamate-related abnormalities in mood disorders*. Biol Psychiatry, 2010. **68**(9): p. 785-94.
13. Théberge, J.A.-S., Y.; Williamson, P. C.; Menon, R. S.; Neufeld, R. W.; Rajakumar, N.; Schaefer, B.; Densmore, M.; Drost, D. J., *Glutamate and glutamine in the anterior cingulate and thalamus of medicated patients with chronic schizophrenia and healthy comparison subjects measured with 4.0-T proton MRS*. Am J Psychiatry., 2003. **160**(12): p. 2231-3.
14. De Witte, P., *Imbalance between neuroexcitatory and neuroinhibitory amino acids causes craving for ethanol*. Addict Behav., 2004. **29**(7): p. 1325-39.
15. Licata, S.C. and Renshaw, P.F., *Neurochemistry of drug action: insights from proton magnetic resonance spectroscopic imaging and their relevance to addiction*. Ann N Y Acad Sci, 2010. **1187**: p. 148-71.
16. Martin, W.R.W., *MR spectroscopy in neurodegenerative disease*. Molecular Imaging and Biology, 2007. **9**(4): p. 196-203.

17. Cianfoni, A., Niko, S., and Imbesi, S.G., *Metabolite findings in tumefactive demyelinating lesions utilizing short echo time magnetic resonance spectroscopy*. American Journal of Neuroradiology 2007. **28**: p. 272-77.
18. Petroff, O.A., Errante, L.D., Rothman, D.L., Kim, J.H., and Spencer, D.D., *Glutamate-glutamine cycling in the epileptic human hippocampus*. Epilepsia., 2002. **43**(7): p. 703-10.
19. Cavus, I., Kasoff, W.S., Cassaday, M.P., Jacob, R., Gueorguieva, R., Sherwin, R.S., Krystal, J.H., Spencer, D.D., and Abi-Saab, W.M., *Extracellular metabolites in the cortex and hippocampus of epileptic patients*. Ann Neurol, 2005. **57**(2): p. 226-35.
20. Rovira, A.A., J.; Córdoba, J., *MR Imaging Findings in Hepatic Encephalopathy*. AJNR Am J Neuroradiol., 2008. **29**(9): p. 1612-21.
21. Hazany, S., Hesselink, J.R., Healy, J.F., and Imbesi, S.G., *Utilization of glutamate/creatine ratios for proton spectroscopic diagnosis of meningiomas*. Neuroradiology, 2007. **49**(2): p. 121-7.
22. Horska, A. and Barker, P.B., *Imaging of brain tumors: MR spectroscopy and metabolic imaging*. Neuroimaging Clin N Am, 2010. **20**(3): p. 293-310.
23. Shutter, L.T., K. A.; Holshouser, B. A., *Proton MRS in acute traumatic brain injury: role for glutamate/glutamine and choline for outcome prediction*. J Neurotrauma., 2004. **21**(12): p. 1693-705.
24. Veech, R.L., *The metabolism of lactate*. NMR Biomed, 1991. **4**(2): p. 53-58.
25. Rassow, J., Hauser, K., Netzker, R., and Deutzmann, R., *Duale Reihe Biochemie*. 4 ed. 2016, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG.
26. Bruhn, H., Frahm, J., Gyngell, M.L., Merboldt, K.D., Hänicke, W., and Sauter, R., *Cerebral metabolism in man after acute stroke: new observations using localized proton NMR spectroscopy*. Magn Reson Imaging, 1989. **9**(1): p. 126-31.
27. Bruhn, H., Frahm, J., Gyngell, M.L., Merboldt, K.D., Hänicke, W., Sauter, R., and Hamburger, C., *Noninvasive differentiation of tumors with use of localized H-1 MR spectroscopy in vivo: initial experience in patients with cerebral tumors*. Radiology, 1989. **172**(2): p. 541-48.
28. Rudkin, T.M. and Arnold, D.L., *Proton magnetic resonance spectroscopy for the diagnosis and management of cerebral disorders*. Arch Neurol., 1999. **56**(8): p. 919-26.
29. van Rijen, P.C., Luyten, P.R., van der Sprenkel, J.W., Kraaier, V., van Huffelen, A.C., Tulleken, C.A., and den Hollander, J.A., *1H and 31P NMR measurement of cerebral lactate, high-energy phosphate levels, and pH in humans during voluntary hyperventilation: associated EEG, capnographic, and Doppler findings*. Magn Reson Imaging, 1989. **10**(2): p. 182-93.
30. Kim, H., Catana, C., Ratai, E.M., Andronesi, O.C., Jennings, D.L., Batchelor, T., Jain, R.K., and Sorensen, A.G., *Serial magnetic resonance spectroscopy reveals a direct metabolic effect of cediranib in glioblastoma*. Cancer Res., 2011. **71**(11): p. 3745-52.
31. Bian, W., Khayal, I.S., Lupo, J.M., McGue, C., Vandenberg, S., Lamborn, K.R., Chang, S.M., Cha, S., and Nelson, S.J., *Multiparametric characterization of*

- grade 2 glioma subtypes using magnetic resonance spectroscopic, perfusion, and diffusion imaging.* *Transl. Oncol.*, 2009. **2**(4): p. 271-80.
32. Chang, S.M., Nelson, S., Vandenberg, S., Prados, M., Butowski, N., McDermott, M., Parsa, A.T., Aghi, M., Clarke, M., and Berger, M., *Integration of preoperative anatomic and metabolic physiologic imaging of newly diagnosed glioma.* *J Neurooncol.*, 2009. **92**(3): p. 401-15.
 33. Jacobs, M.A., Horska, A., van Zijl, P.C., and Barker, P.B., *Quantitative proton MR spectroscopic imaging of normal human cerebellum and brain stem.* *Mag Reson Med*, 2001. **46**(4): p. 699-705.
 34. Warburg, O., *On the origin of cancer cells.* *Science*, 1956. **123**(3191): p. 309-14.
 35. Zoula, S., Hérigault, G., Ziegler, A., Farion, R., Décorps, M., and Rémy, C., *Correlation between the occurrence of 1H-MRS lipid signal, necrosis and lipid droplets during C6 rat glioma development.* *NMR Biomed*, 2003. **16**(4): p. 199-212.
 36. Li, X., Vigneron, D., Cha, S., Graves, E.E., Crawford, F., and Nelson, S.J., *Relationship of MR-derived lactate, mobile lipids, and relative blood volume for gliomas in vivo.* *AJNR Am J Neuroradiol.*, 2005. **26**(4): p. 760-9.
 37. Chawla, S., Oleaga, L., Wang, S., Kreyza, J., Wolf, R.L., Woo, J.H., O'Rourke, D.M., Judy, K.D., Grady, M.S., Melhem, E.R., and Poptani, H., *Role of proton magnetic resonance spectroscopy in differentiating oligodendrogliomas from astrocytomas.* *J Neuroimaging.*, 2010. **20**(1): p. 3-8.
 38. Brand, A., Richter-Landsberg, C., and Leibfritz, D., *Multinuclear NMR studies on the energy metabolism of glial and neuronal cells.* *Dev Neurosci.*, 1993. **15**(3-5): p. 289-98.
 39. Kim, D., Fiske, B.P., Birsoy, K., Freinkman, E., and Sabatini, D.M., *SHMT2 drives glioma cell survival in ischaemia but imposes a dependence on glycine clearance.* *Nature*, 2015. **520**(7547): p. 363-7.
 40. Andronesi O.C., Kim G.S., Gerstner E., Batchelor T., Tzika A. A., Fantin V. R., Vander Heiden M. G., Sorensen A. G. *Detection of 2-Hydroxyglutarate in IDH-mutated Glioma patients by in vivo spectral-editing and 2D correlation magnetic resonance spectroscopy.* *Sci Transl Med*, 2012. **11**;4(116).
 41. Christensen, B.C., Smith, A.A., Zheng, S., Koestler, D.C., Houseman, E.A., Marsit, C.J., Wiemels, J.L., Nelson, H.H., Karagas, M.R., Wrensch, M.R., Kelsey, K.T., and Wiencke, J.K., *DNA methylation, isocitrate dehydrogenase mutation, and survival in glioma.* *J Natl Cancer Inst*, 2011. **103**(2): p. 143-53.
 42. Madan, A., Ganji, S.K., An, Z., Choe, K.S., Pinho, M.C., Bachoo, R.M., Maher, E.M., and Choi, C., *Proton T2 measurement and quantification of lactate in brain tumors by MRS at 3 Tesla in vivo.* *Magn Reson Med*, 2015. **73**(6): p. 2094-9.
 43. Auer, D.P., Gössl, C., Schirmer, T., and Czisch, M., *Improved analysis of 1H-MR spectra in the presence of mobile lipids.* *Mag Reson Med*, 2001. **46**(3): p. 615-8.
 44. Provencher, S.W. *LCModel & LCMgui User's Manual.* 2016 [cited 2016 04/10/2017]; Available from: <http://s-provencher.com/pub/LCModel/manual/manual.pdf>.

45. Prost, R.W.M., L.; Mewissen, M.; Li, S. J., *Detection of glutamate/glutamine resonances by ¹H magnetic resonance spectroscopy at 0.5 tesla*. *Mag Reson Med.*, 1997. **37**(4): p. 615-8.
46. Hurd, R., Sailasuta, N., Srinivasan, R., Vigneron, D.B., Pelletier, D., and Nelson, S.J., *Measurement of brain glutamate using TE-averaged PRESS at 3T*. *Magn Reson Med*, 2004. **51**(3): p. 435-40.
47. Srinivasan, R., Cunningham, C., Chen, A., Vigneron, D., Hurd, R., Nelson, S., and Pelletier, D., *TE-averaged two-dimensional proton spectroscopic imaging of glutamate at 3 T*. *Neuroimage*, 2006. **30**(4): p. 1171-8.
48. Schubert, F., Gallinat, J., Seifert, F., and Rinneberg, H., *Glutamate concentrations in human brain using single voxel proton magnetic resonance spectroscopy at 3 Tesla*. *Neuroimage*, 2004. **21**(4): p. 1762-71.
49. Jang, D.P., Lee, J.M., Lee, E., Park, S., Kim, J.J., Namkoong, K., Yoon, K.J., Kim, I.Y., and Kim, S.I., *Interindividual reproducibility of glutamate quantification using 1.5-T proton magnetic resonance spectroscopy*. *Magn Reson Med*, 2005. **53**(3): p. 708-12.
50. Bottomley, P.A., *Selective volume method for performing localized NMR spectroscopy*. General Electric Company, USA., 1984. #4480228.
51. Bottomley, P.A., *Spatial localization in NMR spectroscopy in vivo*. *Ann N Y Acad Sci*, 1987. **508**: p. 333-48.
52. Frahm, J., Bruhn, H., Gyngell, M.L., Merboldt, K.D., Hänicke, W., and Sauter, R., *Localized high-resolution proton NMR spectroscopy using stimulated echoes: initial applications to human brain in vivo*. *Mag Reson Med*, 1989. **9**: p. 79-93.
53. Garwood, M. and DelaBarre, L., *The return of the frequency sweep: designing adiabatic pulses for contemporary NMR*. *J Magn Reson*, 2001. **153**(2): p. 155-77.
54. Slotboom, J. and Bovée, W.M., *Adiabatic slice-selective rf pulses and a single-shot adiabatic localization pulse sequence*. *Concepts Magn Reson.* , 1995. **7**: p. 193-217.
55. Scheenen, T.W., Klomp, D.W., Wijnen, J.P., and Heerschap, A., *Short echo time 1H-MRSI of the human brain at 3T with minimal chemical shift displacement errors using adiabatic refocusing pulses*. *Mag Reson Med*, 2008. **59**(1): p. 1-6.
56. Helms, G., *The principles of quantification applied to in vivo proton MR spectroscopy*. *Eur J Radiol*, 2008. **67**(2): p. 218-29.
57. Jiru, F., *Introduction to post-processing techniques*. *Eur J Radiol*, 2008. **67**(2): p. 202-17.
58. *Spectral Database for Organic Compounds, SDBS website*. <http://riodb01.ibase.aist.go.jp/>. [cited 2012 7 Sep].
59. Oz, G., Alger, J.R., Barker, P.B., Bartha, R., Bizzi, A., Boesch, C., Bolan, P.J., Brindle, K.M., Cudalbu, C., Dincer, A., Dydak, U., Emir, U.E., Frahm, J., Gonzalez, R.G., Gruber, S., Gruetter, R., Gupta, R.K., Heerschap, A., Henning, A., Hetherington, H.P., Howe, F.A., Huppi, P.S., Hurd, R.E., Kantarci, K., Klomp, D.W., Kreis, R., Kruiskamp, M.J., Leach, M.O., Lin, A.P., Luijten, P.R., Marjanska, M., Maudsley, A.A., Meyerhoff, D.J., Mountford, C.E., Nelson, S.J., Pamir, M.N., Pan, J.W., Peet, A.C., Poptani, H., Posse, S., Pouwels, P.J., Ratai, E.M., Ross, B.D.,

- Scheenen, T.W., Schuster, C., Smith, I.C., Soher, B.J., Tkac, I., Vigneron, D.B., Kauppinen, R.A., and Group, M.R.S.C., *Clinical proton MR spectroscopy in central nervous system disorders*. *Radiology*, 2014. **270**(3): p. 658-79.
60. Harting, I., Jost, G., Hacke, N., and Hartmann, M., [*Magnetic resonance spectroscopy of brain tumours*]. *Nervenarzt*, 2005. **76**(4): p. 403-17.
61. Wijnen, J.P., Haarsma, J., Boer, V.O., Luijten, P.R., van der Stigchel, S., Neggers, S.F.W., and Klomp, D.W.J., *Detection of lactate in the striatum without contamination of macromolecules by J-difference editing MRS at 7 T*. *NMR in Biomedicine*, 2015. **28**(4): p. 514-522.
62. Yamasaki, F., Takaba, J., Ohtaki, M., Abe, N., Kajiwara, Y., Saito, T., Yoshioka, H., Hama, S., Akimitsu, T., Sugiyama, K., Arita, K., and Kurisu, K., *Detection and differentiation of lactate and lipids by single-voxel proton MR spectroscopy*. *Neurosurg Rev*, 2005. **28**(4): p. 267-77.
63. Wang, A.M., Leung, G.K.K., Kiang, K.M.Y., Chan, D., Cao, P., and Wu, E.X., *Separation and quantification of lactate and lipid at 1.3 ppm by diffusion-weighted magnetic resonance spectroscopy*. *Magnetic Resonance in Medicine*, 2017. **77**(2): p. 480-489.
64. Howe, F.A., Barton, S.J., Cudlip, S.A., and Griffiths, J.R., *Metabolic profiles of human brain tumors using quantitative in vivo 1H magnetic resonance spectroscopy*. *Mag Reson Med*, 2003. **49**: p. 223-232.
65. Ishimaru, H., Morikawa, M., Iwanaga, S., Kaminogo, M., Ochi, M., and Hayashi, K., *Differentiation between high-grade glioma and metastatic brain tumor using single-voxel proton MR spectroscopy*. *Eur Radiol*, 2001. **11**(9).
66. Kimura, T., Sako, K., Gotoh, T., Tanaka, K., and Tanaka, T., *In vivo single-voxel proton MR spectroscopy in brain lesions with ring-like enhancement*. *NMR Biomed*, 2001. **14**(6): p. 339-49.
67. Smith, M.A., Koutcher, J.A., and Zakian, K.L., *J-difference lactate editing at 3.0 Tesla in the presence of strong lipids*. *J Magn Reson Imaging*, 2008. **28**(6): p. 1492-8.
68. Star-Lack, J., Spielman, D.M., Adalsteinsson, E., Kurhanewicz, J., Terris, D.J., and Vigneron, D.B., *In vivo lactate editing with simultaneous detection of choline, creatine, NAA, and lipid singlets at 1.5 T using PRESS excitation with applications to the study of brain and head and neck tumors*. *J Magn Reson*, 1998. **133**(2): p. 243-54.

7 Erklärungen zum Eigenanteil der Dissertationsschrift

Die vorliegende Dissertationsarbeit wurde an der Universitätsklinik Tübingen, Abteilung für Diagnostische und Interventionelle Neuroradiologie unter Betreuung von Prof. Dr. Uwe Klose durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte ebenfalls in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. Uwe Klose.

Sämtliche Versuche wurden von mir mit Unterstützung durch Prof. Dr. Uwe Klose und/oder Anja Stierl durchgeführt.

Die Auswertung der Spektren erfolgte eigenständig durch mich selbst.

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben. Wörtlich oder inhaltlich übernommene Stellen wurden als solche gekennzeichnet.

Tübingen, den 20.02.2020

Simon Männlin

8 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich insbesondere meinem Doktorvater Prof. Dr. Uwe Klose für die Betreuung während des experimentellen Teils der Dissertationsarbeit und des Schreibens danken. Er stand mir stets unterstützend zur Seite und war immer bereit, bei aufkommenden Fragen oder Problemen eine Lösung zu finden.

Des Weiteren danke ich Herrn Rupert Kolb für die Unterstützung.

Anja Stierl danke ich für die praktische Unterstützung bei den durchgeführten Messungen.

Ich danke ebenfalls Dr. Benjamin Bender für das Bereitstellen der Daten zur Auswertung im Rahmen des Projekts „Quantifizierung von Laktat in Hirntumoren“.

Danken möchte ich auch den fünfzehn Probanden, die freiwillig an dieser Studie teilgenommen haben und ohne deren Einsatz diese Dissertation nicht zustande gekommen wäre.